

РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ГЕНОВ – ОДИН ИЗ МЕХАНИЗМОВ ИЗМЕНЕНИЯ РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

© 2021 г. **В. Ф. Михайлов**¹, **Л. В. Шуленина**^{1,*}

¹ Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна, Москва, Россия

*E-mail: shulenina2010@mail.ru

Поступила в редакцию 18.09.2020 г.

После доработки 10.12.2020 г.

Принята к публикации 16.12.2020 г.

Эффективное функционирование клеток в организме осуществляется при помощи внутриклеточных сигнальных путей, активация которых приводит к изменению профиля экспрессии генома. Дифференциальная активация и репрессия генов может вызвать изменение радиочувствительности клеток. На основе литературных данных и результатов, полученных нами в эксперименте, исследуется влияние радиации на состояние некоторых сигнальных путей, а также микроРНК. Анализируется возможность изменения радиочувствительности клеток при воздействии на сигнальные пути, запускающие программы клеточной гибели или пролиферации. Рассматриваются подходы направленного воздействия на P53-зависимую систему сохранения стабильности генома для увеличения пострадиационной выживаемости, а также значимость этой системы в формировании отдаленных последствий лучевого воздействия.

Ключевые слова: радиочувствительность, внутриклеточные сигнальные пути, радиозащитные соединения, экспрессия генов, P53, микроРНК

DOI: 10.31857/S0869803121040081

В настоящее время актуальной задачей радиационной медицины является разработка средств, препятствующих формированию опасных для здоровья отдаленных последствий пролонгированных радиационных воздействий с низкой мощностью дозы. Другой важной проблемой является снижение возникновения острых и поздних побочных эффектов, например, вторичных опухолей, при применении различных видов лучевой терапии (классической фракционированной, стереотаксической лучевой хирургии, лучевой терапии с использованием средств визуализации). Хорошо известно, что все опухоли различаются по чувствительности к действию радиации. Например, ВПЧ (вирус папилломы человека) – положительная плоскоклеточная карцинома ротоглотки – демонстрирует высокую скорость локорегионального контроля после завершения радикальной лучевой терапии [1], в то время как другие опухоли могут проявлять повышенную радиорезистентность. Показано, что микроокружение опухоли, включая иммунную систему человека, также может опосредовать ее рост и ответ на лучевое воздействие, тем самым обуславливая ее радиочувствительность [2].

На основе современных достижений молекулярной генетики в зарубежных странах ведутся

интенсивные исследования по разработке новых лечебных средств, позволяющих усиливать поражение раковых клеток или снижать поражение окружающих здоровых тканей (так называемое терапевтическое отношение лучевой терапии). Лекарства, нацеленные на пути передачи сигнала в клетке при прогрессировании рака, а в последнее время и иммунотерапевтические препараты, направленные на конкретные подмножества иммунных клеток (опухоль-ассоциированные макрофаги и нейтрофилы, регуляторные Т-клетки, супрессорные клетки миелоидного происхождения) вошли в клинику с многообещающими результатами.

Цель данного исследования – оценка по данным литературы возможности влияния на радиорезистентность клеток посредством регуляции активности генов с помощью микроРНК.

Возможность эффективного функционирования клеток в организме осуществляется при помощи внутриклеточных сигнальных путей. Передача сигнала в клетке (cell signaling) – это часть системы, которая координирует связь между клеточной поверхностью и ядром, между разными клетками, а также между клетками и внеклеточным матриксом. Многие исследования проде-

монстрировали, что внеклеточные микроРНК (miR) в составе экзосом могут выполнять функцию межклеточных сигнальных молекул, связываясь с Toll-подобными рецепторами и активируя сигнальные события в клетке, приводящие, например, к росту и метастазированию опухоли [3]. Показано, что опосредованный экзосомами перенос miR-105 от клеток рака молочной железы к эндотелиальным клеткам приводит к разрушению барьерной функции эндотелия за счет ингибирования белка плотных межклеточных контактов *zonula occludens 1 (ZO-1)*, что способствует развитию метастазов.

Конечным звеном сигнального каскада часто оказываются транскрипционные факторы, предположительно составляющие ~10% генов и вызывающие изменение профиля экспрессии генома. Дифференциальная активация и репрессия генов, возникающие в результате передачи сигнала от рецепторов к геному, в свою очередь, запускают модули-программы, реализующие такие процессы, как пролиферация, гибель клеток, онкотрансформация и т.д. При одинаковом генотипе профиль экспрессии генов отличается в клетках различных тканей организма, также как и ответ этих клеток на экстремальные воздействия. В связи с этим необходимы исследования фенотипа клеток, имеющих различную радиорезистентность, как для формирования ближайших, так и отдаленных последствий лучевого поражения. На примере двух микроРНК-miR-34 и miR-21 показано влияние этих соединений на активность гена *P53*, контролирующего функции клетки: гомеостаз, репарацию ДНК, аутофагию, апоптоз и др. после облучения.

ПРОФИЛИРОВАНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В ОНКОЛОГИИ И РАДИАЦИОННОЙ МЕДИЦИНЕ

Профилирование экспрессии генов – это процесс, при котором гены, экспрессируемые в клетке, могут быть измерены в определенное время [4]. Измерение профиля экспрессии генов может быть достигнуто с помощью технологии ДНК-микрочипов, РНК-секвенирования и количественной ПЦР.

Создание технологии ДНК-микрочипов стало важным шагом на пути широкомасштабного анализа экспрессии тысяч генов при различных патологических состояниях. За последние годы наблюдается высокий рост использования этого метода в области исследований различных видов рака, позволяющей применять биопсию с целью изучения молекулярных характеристик опухоли для выявления надежного классификатора прогноза и создания новых эффективных терапевтических средств. Так, например, при колоректальном раке, поражающем около 10% людей во всем

мире, результаты ДНК-микрочипирования в работе [5] показали повышенную экспрессию генов шести хемокинов (*CCL18*, *CXCL9-11*, *IL-8* и *CCL2*), двух генов, связанных с апоптозом (*UBD* и *BIRC3*), а также *LAMC2* и *MMP7*. Более того, результаты биоинформатического анализа выявили, что затронутые гены относились к хемокинам, клеточному циклу и сигнальным путям рецептора, связанного с G-белком [6]. Согласно другому исследованию [7] основными генами, которые участвуют в процессе клеточного цикла и трансформируются при колоректальном раке, были циклины *CCNB1* и *CCNA2*, циклин-зависимая киназа 1 (*CDK1*), *CENPE*, *KIF20A* и *MAD2L1*.

В настоящее время в клиниках доступны несколько коммерческих наборов генов, которые могут предсказывать агрессивную форму рака молочной железы и его подтипы. Так, из разработанных тестов экспрессии генов для прогноза рака молочной железы можно выделить наборы *Optotype DX*, *MammaPrint*, для оценки риска рецидива заболевания – набор на основе *PAM50*; индекса рака молочной железы – набор *EndoPredict* [8].

Для нужд радиационной медицины разрабатываются микрочипы, способные прогнозировать радиочувствительность тканей и до проведения лучевой терапии [9]. Максимальная доза лучевой терапии, которая может быть применена в течение лечения, определяется толерантностью нормальных тканей в области облученного поля. Радиочувствительность тканей, окружающих опухоль, различается среди пациентов, что в ряде случаев может ограничить возможности радиационного лечения. Было проведено клиническое исследование на пациентах с раком головы и шеи с целью решения вопроса о том, могут ли изменения в экспрессии генов в клетках периферической крови быть информативны для прогноза дальнейшего острого развития поражения нормальных тканей после курса химио-лучевой терапии [10]. Профиль экспрессии оценивался в образцах, полученных до и спустя 2 недели после лечения. В лимфоцитах периферической крови с помощью микрочипов были изучены 14 путей, в том числе пути *NFκB*, *IL-6*, *VEGF*. Хотя размер выборки был небольшим, результаты этого исследования показывают, что генетические изменения, вызванные химио-лучевой терапией и определенные в клетках периферической крови, связаны с клиническим развитием негематологической острой реакцией тканей в пределах поля облучения. В более масштабном исследовании Ригер и его коллеги оценивали профиль экспрессии генов с целью выявления маркеров для прогноза формирования неблагоприятных тканевых эффектов после лучевой терапии у онкологических больных [11]. На лимфобластоидных клеточных линиях, полученных от 14 пациентов, страда-

ющих тяжелыми острыми осложнениями, и от 13 пациентов с мягкой формой поражения, изучали профили экспрессии генов через 4 ч после облучения в дозе 4 Гр. Отобранные 24 гена позволили включить в группу риска девять из 14 пациентов (64%), у которых развивались тяжелые осложнения.

В аналогичном исследовании Свенссон и его коллеги использовали образцы крови у 21 больного раком предстательной железы, имеющего тяжелые поздние осложнения после лучевой терапии, и 17 пациентов без осложнений [12]. Анализ профиля экспрессии проводили на интактных лимфоцитах, а также на лимфоцитах через 24 ч после облучения (2 Гр) *in vitro*. На основе индивидуальной экспрессии генов авторы смогли классифицировать 63% пациентов относительно радиочувствительности.

Технология микрочипов была использована для того, чтобы проследить изменения в экспрессии генов, связанных с отдаленными последствиями действия облучения у онкологических больных [13, 14]. Для изучения экспрессии генов образцы ткани здорового кишечника были сравнены с образцами от шести пациентов с лучевым энтеритом с использованием либо Clontech Атлас 1.2 К кДНК массива или массива внеклеточного коллагенового матрикса (ЕСМ) конкретных сигнальных путей (~300 генов). Различия в экспрессии были обнаружены только в восьми исследованных генах. Образцы, взятые у пациентов с лучевым энтеритом, как правило, имеют повышенную экспрессию генов, кодирующих белки, участвующие в реконструкции внеклеточного матрикса (матриксные металлопротеиназы MMP, эндогенные ингибиторы MMP – белки семейства TIMP и коллагены I, III, IV, VI и VIII) и Rho/Rock-сигнальный путь, который участвует в дизайне ткани и трансдифференцировке фибробластов. Величина этих показателей коррелировала со степенью инфильтрации слизистой оболочки воспалительными клетками и присутствием дифференцированных клеток в подслизистой основе. Гены, участвующие в реакциях на стресс, антиоксидантном метаболизме и воспалении, также по-разному экспрессировались. Результаты этих исследований показывают, что радиационный энтерит представляет собой динамичный процесс, включающий ремоделирование структурных компонентов в слизистой оболочке в сторону фиброгенеза. Несколько новых путей (например, Rho/Rock) были определены как дополнительные участники известных фиброзных каскадов.

Большим достижением онкогенетики является то, что изучение функционирования сигнальных цепей позволило выявить для ряда онкологических заболеваний молекулярно-генетические ключевые звенья (мишени), воздействие на кото-

рые замедляло клеточный рост, снижало резистентность опухолевых клеток к лучевой терапии [14]. Взаимодействие между таргетной терапией и лучевой терапией имеет клиническое значение как минимум по двум причинам. Таргетная терапия рака часто сочетается с традиционными подходами, такими как лучевая терапия, поэтому очень важно влияние терапии на эффективность облучения и наоборот. Кроме того, таргетная терапия воздействует на определенные молекулярные мишени, связанные с раком, тогда как радиация действует на все быстро делящиеся нормальные и раковые клетки. Следовательно, эффекты таргетной терапии часто бывают цитостатическими, тогда как радиация обычно убивает быстро делящиеся раковые клетки. На сегодняшний день разработаны специфические ингибиторы, нацеленные на пути передачи сигнала в клетках, проходящие клинические испытания (табл. 1).

ВЛИЯНИЕ РАДИАЦИИ НА РАБОТУ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ В КЛЕТКЕ

Клетки, в том числе и раковые, отвечают на стресс, вызванный воздействием ионизирующей радиации, посредством сложных процессов, активируя проводящие пути, влияющие на репарацию повреждений ДНК, арест клеточного цикла и т.д. [15, 16]. Экспериментальные данные показывают, что воздействие ионизирующей радиации приводит к развитию клеточных реакций, связанных с изменением профиля экспрессии генома [17, 18]. Установлено, что в первые сутки после радиационного воздействия наблюдаются значительные изменения экспрессии сотен генов, вовлеченных в работу важнейших внутриклеточных регуляторных путей. Исследования *in vitro* Голдкорна [19] и Ламмеринга [20] показали, что радиация может активировать рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) через нелиганд-зависимый путь и запускать нисходящие каскады MAPK и PI3K, которые являются мощными медиаторами злокачественного роста и разрастания ткани. В исследовании, посвященном влиянию лучевой терапии на глиомы, Парк обнаружил, что облучение активирует EGFR- p38/Akt- и PI3K/Akt-пути, которые приводят к увеличению количества клеток глиомы, метастазированию и инвазии за счет повышения экспрессии матриксной металлопротеиназы 2 (MMP-2) [21]. Кроме того, было показано, что радиация способствует пролиферации раковых клеток, их распространению и инвазии за счет активации интегрин, который тесно связан с разнообразным биологическим поведением раковой клетки [22], или за счет увеличения фактора, индуцируемого гипоксией

Таблица 1. Некоторые таргетные препараты, находящиеся на стадии клинических испытаний в комбинации с лучевой терапией по данным *Clinical Trials.gov***Table 1.** Some targeted drugs in clinical trials in combination with radiation therapy are reported *Clinical Trials.gov*

Сигнальный путь	Таргетные препараты-ингибиторы	Механизм действия препарата в комбинации с лучевой терапией	Фаза клинических испытаний, год их завершения	Локализация опухоли	Идентификатор <i>Clinical Trials.gov</i> .
PI3K/АКТ/mTOR	Рапамицин и его аналоги	Увеличивает апоптоз клеток и остановку клеточного цикла в фазе G1 и подавляет прогрессирующее в фазе S	I и II, 2018	Операбельный рак прямой кишки	NCT00409994
	Эверолимус	Ингибирование ангиогенеза в опухоли	I, 2018	Рак предстательной железы	NCT01548807
	Темсиролимус	Увеличивает радиорезистентность гипоксических опухолей и снижает потребление клетками кислорода	II, 2014	Опухоли головного мозга и центральной нервной системы	NCT01019434
Метаболическое перепрограммирование	Метформин	Повышает вероятность повреждения ДНК за счет повышения уровня активных форм кислорода, снижает гипоксию опухоли и способствует ее некрозу	I, 2019	Медуллобластома	NCT02040376
	Триоксид мышьяка	Ингибирует рост опухоли за счет повышения активных форм кислорода и индуцирования апоптоза	I, 2009	Рецидивирующая злокачественная глиома	NCT00185861
Ингибиторы контрольных точек клеточного цикла	LY2606368/прексасертиб	Ингибирует серин-треонинкиназу CHK1 и вызывает сенсбилизацию опухоли к радиационному повреждению ДНК	I, 2019	Рак головы и шеи	NCT02555644
Иммунные ингибиторы контрольных точек клеточного цикла	Ипилимумаб	Ингибирует CTLA4 (цитотоксический белок 4, связанный с Т-лимфоцитами) и блокирует тормозные сигналы каскада CTLA-4, увеличивая количество противоопухолевых Т-хэлперов, которые в свою очередь вызывают рост числа прямых Т-киллеров	I и II, 2020	Запущенные солидные опухоли	NCT02239900
			I и II, 2020	Метастатический немелкоклеточный рак легких	NCT02221739
	Ниволумаб	Блокируют рецепторы PD-1 опухолевых клеток, которые связывают Т-лимфоциты, уничтожающие раковые клетки. В результате происходит усиление клеточного иммунитета против опухолевых клеток	II, 2020	Местнораспространенный немелкоклеточный рак легких IIIb стадии	NCT02434081
II, 2020	Местнораспространенный неоперабельный рак поджелудочной железы	NCT03599362			

Таблица 1. Окончание

Сигнальный путь	Таргетные препараты-ингибиторы	Механизм действия препарата в комбинации с лучевой терапией	Фаза клинических испытаний, год их завершения	Локализация опухоли	Идентификатор <i>Clinical Trials.gov</i> .
Иммунные ингибиторы контрольных точек клеточного цикла			III, 2020	Местнораспространенный плоскоклеточный рак головы и шеи	NCT03349710
	Пембролизумаб	Такой же как у Ниволумаба	I, 2019	Метастатический рак мочевого пузыря	NCT02826564
	Дурвалумаб	Связывает рецепторы PD-L1, которые экспрессируются на раковых клетках и мембранах иммунных клеток, окружаящих опухоль и предотвращает инактивацию цитотоксических Т-лимфоцитов, реализующих противоопухолевый иммунный ответ	II, 2020	Метастатический колоректальный рак	NCT03007407
Иммуносупрессоры	Пексидартиниб (PLX3397, PLX108-01)	Ингибитор тирозинкиназ, нацеленный на рецептор колониестимулирующего фактора CSF1R, сверхэкспрессируемый опухолевыми макрофагами	I и II, 2020	Глиобластома	NCT01790503
	Темозоломид	Моноклональное антитело против 3-х изоформ TGF, способного после облучения опухолевых клеток активировать репарацию ДНК	II, 2018	Злокачественная глиома	NCT00782756

(HIF) и активации фактора роста гепатоцитов (HGF) и с-Met-пути передачи сигнала [23].

Клетка, определяющая свою судьбу после воздействия радиации, может получить сигнал для пролиферации или апоптоза как из самого ядра, так и из окружающей среды через плазматическую мембрану (рис. 1) [24]. Но сигнал из внешней среды опосредуется как бы изнутри (продукция активных форм кислорода митохондриями, активация протеин-фосфатазы1, активация внешнего рецептора EBBR) [25–28]. Продукция активных форм кислорода может оказать сильное влияние на работу сигнальных путей через воздействие на цистеиновую область киназ, фосфатаз и других регуляторных факторов [18]. В G_1 -фазе клеточного цикла активные формы кислорода стимулируют митогенактивируемые киназные пути, которые управляют деятельностью циклин-зависимых киназ (CDKs) и фосфорилированием белка ретинобластомы (pRB), таким образом, регулируя вход в S-фазу. Активные формы кислорода способствуют остановке клеточного цикла в фазе

S через PP2A-зависимое дефосфорилирование pRB [29]. Значение ERK1/2-MAPK-киназного каскада после генотоксического воздействия подтверждается и в других исследованиях [30–32]. Информация, полученная клеткой из ядра, оказывает влияние на ранние эффекты облучения, в то время как информация, идущая с поверхностного рецептора, принимает участие в отсроченных последствиях радиации через секрецию паракринных факторов, таких как про-TGF α [33]. Активность паракринных факторов зависит от типа клеток и состояния гена P53. Например, сравнивая клетки HCT116 с диким типом P53 и HCT116 с P53-/- отмечено, что потеря P53 нарушает экспрессию ErbB1. Однако регуляция промотера ErbB1 осуществляется как в клетках P53 дикого типа, так и мутантного P53 [34, 35]. От состояния P53, а также ядерного транскрипционного фактора NF-kB зависит и передача сигнала по ERK1/2-MAPK-киназному каскаду внутри клетки, а именно из ядра в цитоплазму, осуществляемого посредством деятельности белков,

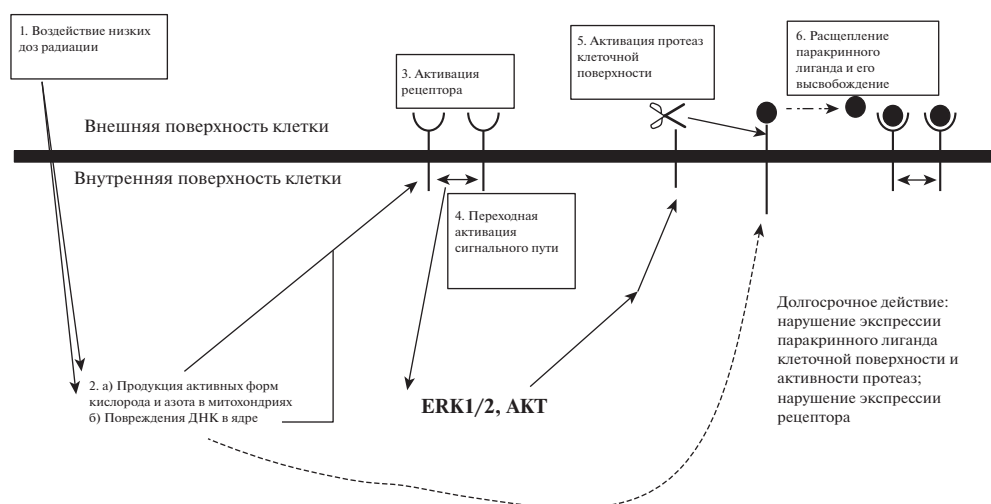


Рис. 1. Сигнальная трансдукция, индуцируемая радиацией: внешний и внутренний пути активации клетки [24].

Fig. 1. Radiation-Induced Signal Transduction: External and Internal Pathways of Cell Activation [24].

определяющих повреждения ДНК: АТМ, Rad3 и каталитическая субъединица ДНК-зависимой протеинкиназы [36]. В одних клеточных системах АТМ и каталитическая единица ДНК-зависимой протеинкиназы активируют ERK1/2-IκB-NFκB-путь в ответ на повреждение ДНК, который направлен на предотвращение апоптоза, возможно после формирования ДНК-повреждений [37], в других — запускается P53-опосредованный механизм активации проапоптотических генов [38].

Таким образом, радиация имеет двойную функцию в отношении раковых клеток, т.е. путем не только прямого повреждения ДНК подавлять рост опухоли, но также путем изменения экспрессии молекул, связанных с инвазией и метастазами может стимулировать или, наоборот, сдерживать развитие опухоли. Более детальные исследования радиационно-индуцированных изменений сигнальных путей могут способствовать развитию персонализированной лучевой терапии.

В настоящее время появляется все больше доказательств того, что внутренняя сигнализация опухоли играет ключевую роль в регулировании иммуносупрессивного состояния ее микроокружения [39] и, возможно, в ее радиочувствительности. В исследовании [40] *in vivo* с использованием мышинной модели карциномы печени было показано, что регрессия опухоли, связанная с экспрессией P53 дикого типа, сильно зависит от активации и набора естественных клеток-киллеров (НК-клеток) в очаге роста опухоли. Эта регрессия, возможно, связана с увеличением экспрессии провоспалительных хемокинов. Полученные данные предполагают, что стабильная передача сигналов от P53 может способствовать привлечению врожденных и адаптивных иммунных клеток в опухолевый очаг, а также их активации.

МикроРНК И ИХ РОЛЬ В РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ И В КЛЕТОЧНОМ ОТВЕТЕ НА РАДИАЦИОННОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ

МикроРНК (miR) регулируют экспрессию генов и таким образом управляют многими внутриклеточными процессами, вовлеченными в клеточный ответ на радиационный стресс [41].

Большинство исследований на сегодняшний день показали, что miR связываются со специфической последовательностью в 3'-UTR-регионе их целевых мРНК и вызывают репрессию трансляции, деаденилирование и декэпирование мРНК [42]. Сайты связывания miR также обнаружены и в других областях мРНК, включая 5'-UTR-регион и кодирующую последовательность, где они оказывают сайленсирующее действие, а также в промоторных областях, где они индуцируют транскрипцию.

Основной механизм действия, с помощью которого miR регулируют экспрессию генов, связан с miR-индуцированным комплексом выключения гена (miRISC), состоящим из направляющей цепи и белков AGO. В свою очередь у мРНК-мишени есть miR-респонсивные элементы (MRE), с помощью которых осуществляется полностью комплементарное взаимодействие miR с MRE, что активирует эндонуклеазу AGO2, которая расщепляет мРНК [43].

Недавние исследования пролили свет на динамическую природу регуляции генов с помощью miR. Показано, что активность miR зависит от их субклеточного расположения (ядерное или цитозольное), от количественного соотношения miR и его мишеней, от степени сродства miR с MRE, типа и состояния клетки, а также доступности

различных компонентов miRISC. Показано, что miR в ядре принимает участие в регуляции транскрипции и альтернативного сплайсинга, в то время как компоненты цитозольного miRISC перемещаются через микротрубочки между различными компартментами клетки. miRISC может связываться с полисомами и ингибировать инициацию трансляции, опосредовать распад мРНК или способствовать активации трансляции. miRISC может использоваться повторно, а может быть перемещен в лизосому для деградации или высвобожден из клетки для обеспечения межклеточной коммуникации [44].

Существуют многочисленные работы, показывающие изменение содержания различных miR в клетках в первые сутки после радиационного воздействия. Так, установлено, что уровни экспрессии miR в эндотелиальных клетках человека после радиационного воздействия в дозе 2 Гр увеличивались для miR: let-7g, miR-16, miR-20a, miR-21 и miR-29c, и снижались для miR-18a, miR-125a, miR-127, miR-148b, miR-189 и miR-503 [45]. Для того чтобы выявить участие miR в ответе клетки на лучевое поражение, исследовалась связь модуляции этих соединений после облучения с индукцией генов, важных для функционирования различных регуляторных путей в клетке [46]. Из проанализированных более 1000 различных научных статей из базы данных PubMed, посвященных этому вопросу, были отобраны работы по влиянию радиации только на клетки человека, в которых был представлен уровень экспрессии miR. Удалось идентифицировать виды miR, их количество, тип клеточных линий, мощность и дозу радиации и время после облучения. В большинстве работ оценивали содержание miR через 0–24 ч после воздействия при применении дозы радиации от 0.1 до 40 Гр. Так, удалось обнаружить пути, в которых функция мишеных генов подтверждена модуляцией со стороны miR в облученных клетках. Всего было идентифицировано 222 гена-мишеней miR, контролирующих 17 биологических процессов. 22 из этих генов идентифицированы в MAPK-сигнальном пути, 20 генов связаны с регуляцией актинового скелета, 20 генов вовлечены в эндоцитоз. Большое количество исследований посвящено MAPK-сигнальному пути в радиационном ответе [47]. Было определено участие 19 генов-мишеней miR в инсулин-опосредованном сигнальном пути [48]. Анализ подтвердил участие miR в механизмах пострадиационного апоптоза, изменений в регуляции клеточного цикла, P53- и TGF- β -опосредованной сигнализации в клетках, подвергавшихся воздействию ионизирующей радиации [49]. Другие пути, в модуляции функционирования которых после воздействия радиации участвуют miR, связаны с адгезией клетки [50], мейозом

ооцитов [51] и убиквитин-зависимым протеолизом [52].

Однако следует иметь в виду, что исследование экспрессии важнейших онкогенов и онкосупрессоров не может дать законченной картины о состоянии клеток. Дело в том, что хотя все клетки организма генетически эквивалентны, каждая имеет свою собственную уникальную идентичность. В геноме человека (~25000 генов) экспрессия каждого гена строго регулируется для контроля функции и внутриклеточного состояния каждой клетки. Активность генов контролируется на уровне ДНК, мРНК и белка. мРНК транспортируются из ядра в цитоплазму, где на их матрице в рибосомах образуются белки. Различные мРНК имеют различную стабильность. На одной молекуле мРНК может синтезироваться в рибосомах разное количество белков. Таким образом, синтез мРНК не означает, что таким же, как содержание мРНК, будет и количество синтезированных белков. Более того, важно учитывать белок-белковые взаимодействия, поскольку именно они определяют активность важнейших транскрипционных факторов, онкогенов и супрессоров опухолей в клетке. Многие важнейшие белки находятся в инактивированном состоянии в комплексе с другими белками и становятся активными после освобождения из комплекса. Для проявления активности других белков необходимо наличие кофакторов. Поэтому для изучения предотвращения ранних повреждающих эффектов воздействия ионизирующей радиации особую важность приобретают исследования функционирования комплекса генов, отвечающих за выживаемость клеток и усиления их пролиферации. Для предотвращения отдаленных эффектов действия ионизирующей радиации особое значение приобретают системы, реализующие механизмы защиты генома.

P53-ЗАВИСИМАЯ СИСТЕМА ЗАЩИТЫ ГЕНОМА ОТ СТРЕСС-ВОЗДЕЙСТВИЙ

Центральным компонентом защитной системы организма, направленной на ограничение вероятности сохранения генетически измененных клеток, является опухолевой супрессор – белок P53. Уровень его содержания в большинстве клеток остается чрезвычайно низким, поскольку белок P53 связан с убиквитин-лигазами типа E3 (mdm2, Cop1, Pirh2), инактивирующими его и способствующими быстрой деградации в системе 26S протеасом [53]. При действии стресс-факторов, к которым относится ионизирующая радиация, P53 освобождается и становится активным. miR-34 отвечает за реализацию активности P53 в клетках [54]. Ее содержание увеличивается с ростом активности P53. Через miR-34 осуществляется воздействие онкосупрессора на гены-мише-

ни, приводящее к остановке клеточного цикла и активации репарационных процессов. Влияние P53 на гены-мишени *c-Myc* и *CDK6* осуществляется через miR-145, на гены *CDC7*, *MAD2L1*, *CUL5* – через miR-192 и miR-215, а *HIF1 β* – через miR-107.

Существуют определенные различия в активации P53 – зависимой системы защиты генома при воздействии разных генотоксических агентов на различные клетки. Так, через 24 ч после воздействия ионизирующей радиации в дозах от 2 до 5 Гр увеличивались содержание белка P53 и уровень miR-34 в клетках HeLa и MSF 7. Другой генотоксический агент – блеомицин – не влиял на уровень miR, однако вызывал значительное увеличение активности P53 в этих клетках [55, 56].

В случае сохранения повреждений в геноме P53 активирует программу апоптоза. Показано, что при действии доз радиации, способных вызвать костномозговой синдром, белок P53 активно работает на пути сохранения стабильности генома путем усиления апоптоза клеток с поврежденным геном. В связи с этим были предложены методы снижения радиочувствительности клеток костного мозга при помощи пифитрина- α , способного подавлять функции P53 [57]. Введение пифитрина- α защищало 100% мышей от 60%-ной летальной дозы [58]. Предложенный метод защиты от острого лучевого поражения в настоящее время не применяется [59]. Оценки влияния введения пифитрина- α на формирование отдаленных последствий действия радиации у авторов этой разработки имели только теоретический характер. Более того следует отметить, что эффективность пифитрина- α как специфического ингибитора P53 на сегодняшний день представляется весьма сомнительной и зависит от контекста. На клеточных моделях [60] показано, что пифитрин- α не ингибировал P53-зависимое подавление роста клеток и оказывал целевое влияние на ген и транскрипционную активность P53, вероятно, из-за косвенного ингибирования посттранскрипционных модификаций P53.

В то же время очевидно, что в P53^{+/+}-клетках активность онкосупрессора P53 зависит от уровня повреждений генома, вызванных действием стресс-фактора и функционирования других сигнальных систем. Например, при стресс-воздействиях в зависимости от состояния антиоксидантной системы и содержания активных форм кислорода возможна реализация различных сценариев: выживание клеток со сниженной клеточной защитой, остановка клеточного цикла, репарация ДНК, а также запуск апоптоза и гибель клеток (рис. 2) [61].

Активация P53-зависимой системы сохранения стабильности генома важна для защиты от возникновения таких отдаленных последствий радиационного воздействия, как онкотрансфор-

мация. В связи с этим нами были проведены исследования по изучению экспрессии гена P53 и содержания зрелых miR-34, miR-21 в клетках костного мозга в течение 2.5 мес. после острого облучения крыс в дозе 2.5 Гр (⁶⁰Co). Определение содержания зрелых miR-34, miR-21 и мРНК гена P53 в клетках костного мозга проводили с помощью ОТ-ПЦР в реальном времени. Данные анализировали с использованием метода $\Delta\Delta C_t$. Экспрессию гена P53 и содержание зрелой микроРНК у крыс нормировали по медиане показателя в группе необлученный “контроль”. Полученные результаты показывают, что в клетках костного мозга снижается эффективность функционирования онкосупрессора P53 (рис. 3). Известно, что уровень содержания зрелой miR-34 увеличивается с ростом активности P53. Развивающиеся в последнее время исследования микроРНК показывают, что даже при наличии свободного белка P53 в клетке при отсутствии miR-34 теряется способность белка P53 выполнять свои функции “стража генома”. Поэтому наблюдаемое нами снижение содержания зрелой miR-34 свидетельствует о реальном снижении активности онкосупрессора P53, а не только об обнаруженном нами уменьшении транскрипционной активности гена P53.

В клетках костного мозга у четырех крыс из восьми обследованных на 75-е сутки после облучения обнаруживается более чем 10-кратное увеличение содержания зрелой miR-21 по сравнению с медианой этого показателя у контрольной группы. Таких значений содержания зрелой miR-21 в контрольной группе, состоящей из 16 животных, не обнаруживалось. Применение непараметрического точного критерия Фишера при сопоставлении групп “облучение” и “контроль” показало, что появление в клетках костного мозга у части облученных крыс значений, превышающих более чем в 10 раз медиану содержания miR-21 в группе “контроль”, не является случайным ($p = 0.0066$). Увеличение содержания онкогена miR-21 у части облученных животных в этот период времени свидетельствует об усилении пролиферативных процессов в клетках костного мозга на фоне снижения контроля за сохранением стабильности генома. Можно полагать, что зафиксированные нами изменения содержания miR могут быть маркерами риска формирования отдаленных последствий радиационного воздействия. Это вытекает из того, что при низкой активности P53 и возможном воздействии генотоксического фактора, приводящего к увеличению содержания активных форм кислорода, клетки будут находиться в состоянии сниженной клеточной защиты стабильности генома и усиленного пролиферативного потенциала, обусловленного высоким содержанием miR-21. Для таких животных позитивным, вероятно, является применение антиоксидантов, способных снизить поражающее дей-

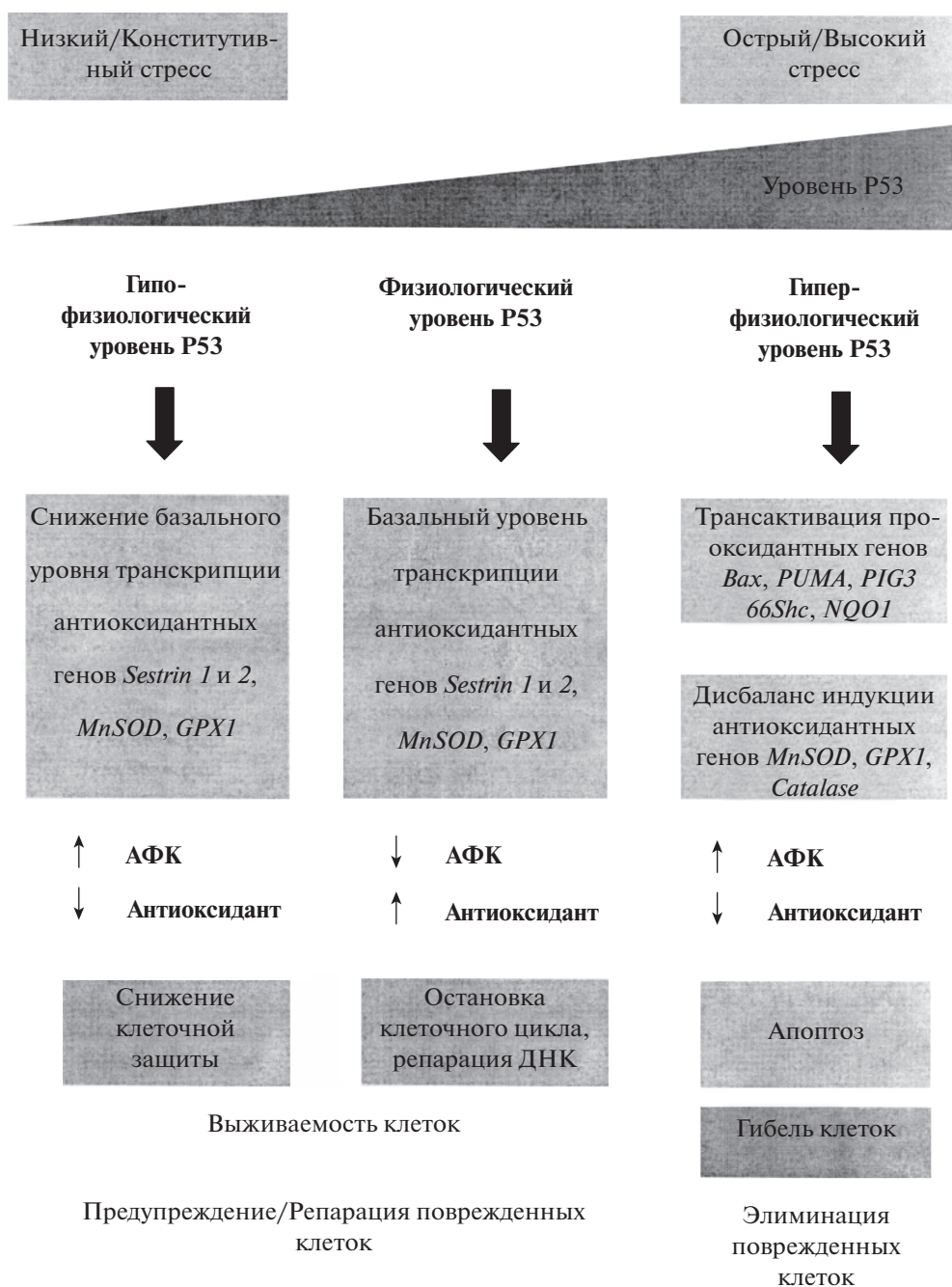


Рис. 2. Биологические функции P53 в зависимости от его содержания в клетке [61].

Fig. 2. Biological functions of p53 protein depending on its content in the cell [61].

ствии генотоксических агентов. Для miR-21 в качестве генов-мишеней выступают многие гены, включая и онкосупрессоры: *PTEN*, *PDCD4*, *Bcl2*, *RECK*, *IL-12p35*, *JAG1*, *HNRPK*, *BTG2*, *TGFBR11*, *TAp63*, *P12/CDK2AP1*, *MEF2C*, *ANP32A*, *SMARCA4*, *RhoB*, *hMSH2*. Увеличение содержания miR-21 типично для опухолей молочной железы, яичника, прямой кишки, легких, печени, простаты, поджелудочной и щитовидной желез, опухолей

области головы и шеи. В исследованиях, проведенных на мышах после облучения в дозе 0.5 Гр, так же как и в нашей работе, было обнаружено, что радиация стимулирует экспрессию miR-21, а кроме этого и экспрессию EGFR (рецептор эпидермального фактора роста) в клетках гипокампа, и что уровень miR-21 постепенно увеличивается в течение 1 года после облучения [62]. Кроме этого авторы показали, что miR-21 и EGFR образуют

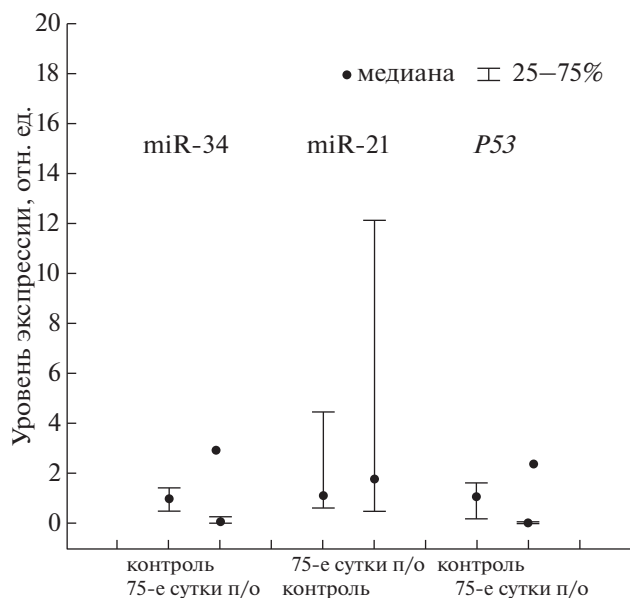


Рис. 3. Содержание микроРНК и мРНК гена *P53* в клетках костного мозга крыс на 75-е сутки после воздействия γ -облучения в дозе 2.5 Гр. Значения медианы в группе “контроль” условно приняты за 1.

* Отличия от контроля статистически значимы ($p < 0.05$).

Fig. 3. The content of microRNA and mRNA of *P53* gene in rat bone marrow cells on day 75 after γ -irradiation at a dose of 2.5 Gy. The median values in the group “control” are conventionally taken as 1.

* Differences from “control” are statistically significant ($p \leq 0.05$).

положительную регуляторную петлю, поскольку радиация стимулирует miR-21 через EGFR/Stat3-путь, а miR-21 активирует EGFR-путь. По-видимому, увеличение содержания miR-21 является защитной реакцией на радиационное воздействие, поскольку показано, что высокая активность рецептора эпидермального фактора роста обуславливает радиорезистентное состояние клеток [63]. С другой стороны, при снижении активности *P53*-зависимой системы ответа на стресс воздействие увеличивается вероятность формирования нестабильности генома.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, нами обобщены некоторые достижения, полученные при исследовании регуляции экспрессии генов с помощью miR, которые опосредуют радиочувствительность различных видов рака. Показано, что одним из ключевых генов, обуславливающих ответ клетки на действие радиации, является *P53*, участвующий в механизмах клеточного апоптоза, репарации ДНК, аутофагии и т.д. Поэтому модуляция его активности в контексте терапии рака и в контексте защиты тканей от радиационных повреждений с помощью различных соединений долгое

время казалась весьма многообещающей. Тем не менее выявленные многочисленные побочные эффекты в нормальных тканях, а также развитие *P53*-устойчивых опухолей дают основания для поиска новых терапевтических стратегий. В частности, использование адресной доставки miR в опухолевые клетки в исследованиях *in vitro* демонстрирует некий потенциал повышения клеточной радиочувствительности.

Известно, что опухоли часто подавляют адаптивную иммунную систему человека, поэтому различные иммунные модуляторы, проходящие фазы I и II клинических испытаний, также являются перспективными средствами борьбы с раком. Более того, сама лучевая терапия может оказывать либо усиливающий, либо подавляющий эффекты на иммунную систему в зависимости от дозы и поля облучения. Большое поле облучения онкологических больных с метастазами в позвоночнике снижает количество лейкоцитов в крови и оказывает иммунодепрессивное воздействие, а при использовании конформной лучевой терапии с высокой дозой на фракцию у больных проявляется иммуностимулирующий эффект [64, 65].

Поэтому исследования, направленные на оптимизацию комбинированных режимов лучевой терапии, таргетной и иммунной терапии с целью минимизации и снижения риска радиационных поражений, представляют собой будущее перспективное направление радиационной медицины.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при поддержке программы развития ядерной медицины “АО Наука и инновации” ГК Росатом.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Ang K., Harris J., Wheeler R. et al.* Human papillomavirus and survival of patients with oropharyngeal cancer // *N. Engl. J. Med.* 2010. V. 363. № 1. P. 24–35. <https://doi.org/10.1016/j.jca.2017.08.001>
2. *Михайлов В.Ф., Шуленина Л.В., Васильева И.М. и др.* МикроРНК как регуляторы активности генов в клетках человека при воздействии ионизирующей радиации // *Генетика.* 2017. Т. 53. № 3. С. 265–278. [*Mikhailov V.F., Shulenina L.V., Vasilyeva I.M. et al.* The miRNA as human cell gene activity regulator after ionizing radiation // *Rus. J. Genetics.* 2017. V. 53. № 3. P. 285–296. (In Russian)]
3. *Lehmann S.M., Kruger C., Park B. et al.* An unconventional role for miRNA: let-7 activates Toll-like receptor 7 and causes neurodegeneration // *Nat. Neurosci.* 2012. V. 15. P. 827–835. <https://doi.org/10.1038/nn.3113>
4. *Metsis A., Andersson U., Bauren G. et al.* Whole-genome expression profiling through fragment display and combinatorial gene identification // *Nucl. Acids Res.*

2004. V. 32. № 16. P. e127.
<https://doi.org/10.1093/nar/gnh126>
5. Kobayashi T., Masaki T., Nozaki E. et al. Microarray analysis of gene expression at the tumor front of colon cancer // *Anticancer Res.* 2015. V. 35. № 12. P. 6577–6581.
 6. Guo Y., Bao Y., Ma M., Yang W. Identification of key candidate genes and pathways in colorectal cancer by integrated bioinformatical analysis // *Int. J. Molec. Sci.* 2017. V. 18. № 4. P. 722.
<https://doi.org/10.3390/ijms18040722>
 7. Hanahan D., Weinberg R.A. Hallmarks of cancer: The next generation // *Cell.* 2011. V. 144. № 5. P. 646–674.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
 8. Guler E.N. Gene expression profiling in breast cancer and its effect on therapy selection in early-stage breast cancer // *Eur. J. Breast Health.* 2017. V. 13. № 4. P. 168–174.
<https://doi.org/10.5152/ejbh.2017.3636>
 9. Vozenin-Brotons M.-C. Gene expression arrays as a tool to unravel mechanisms of normal tissue radiation injury and prediction of response // *World J. Gastroenterol.* 2007. V. 13. P. 2669–2674.
<https://doi.org/10.3748/wjg.v13.i19.2669>
 10. Sonis S., Haddad R., Posner M. et al. Gene expression changes in peripheral blood cells provide insight into the biological mechanisms associated with regimen-related toxicities in patients being treated for head and neck cancers // *Oral Oncol.* 2007. V. 43. P. 289–300.
<https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2006.03.014>
 11. Rieger K.E., Hong W.J., Tusher V.G. et al. Toxicity from radiation therapy associated with abnormal transcriptional responses to DNA damage // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004. V. 101. P. 6635–6640.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0307761101>
 12. Svensson J.P., Stalpers L.J., Esveldt-van Lange R.E. et al. Analysis of Gene Expression Using Gene Sets Discriminates Cancer Patients with and without Late Radiation Toxicity // *PLoS Med.* 2006. V. 3. P. 422.
<https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0030422>
 13. Vozenin-Brotons M.C., Milliat F., Linard C. et al. Gene expression profile in human late radiation enteritis obtained by high-density cDNA array hybridization // *Radiat. Res.* 2004. V. 161. P. 299–311.
<https://doi.org/10.1667/RR3128>
 14. Strup-Perrot C., Mathe D., Linard C. et al. Global gene expression profiles reveal an increase in mRNA levels of collagens, MMPs, and TIMPs in late radiation enteritis // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2004. V. 287. P. 875–885. Михайлов В.Ф., Шуленина Л.В., Васильева И.М. и др. Некоторые аспекты канцерогенеза, связанные с генетическими и эпигенетическими факторами // *Успехи совр. биологии.* 2018. Т. 138. № 5. С. 427–445. [Mikhailov V.F., Shulenina L.V., Vasilyeva I.M. et al. Some aspects of cancerogenesis related to genetic and epigenetic factors // *Biol. Bull. Rev.* 2018. V. 138. № 5. P. 427–445. (In Russian)]
<https://doi.org/10.1152/ajpgi.00088.2004.14>
 15. Chaudhry M.A. Bystander effect: biological endpoints and microarray analysis // *Mutat. Res.* 2006. V. 597. № 1–2. P. 98–112.
<https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2005.04.023>
 16. Chaudhry M.A. Biomarkers for human radiation exposure // *J. Biomed. Sci.* 2008. V. 15. № 5. P. 557–563.
<https://doi.org/10.1007/s11373-008-9253-z>
 17. Chaudhry M.A. Radiation-induced gene expression profile of human cells deficient in 8-hydroxy-2'-deoxyguanine glycosylase // *Int. J. Cancer.* 2006. V. 118. № 3. P. 633–642.
<https://doi.org/10.1002/ijc.21392>
 18. Berglund S.R., Rocke M. et al. Transient genome-wide transcriptional response to low-dose ionizing radiation in vivo in humans // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2008. V. 70. № 1. P. 229–234.
<https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2007.09.026>
 19. Goldkorn T., Balaban N., Shannon M., Matsukuma K. EGF receptor phosphorylation is affected by ionizing radiation // *Biochim. Biophys. Acta.* 1997. V. 1358. № 3. P. 289–299.
[https://doi.org/10.1016/s0167-4889\(97\)00063-3](https://doi.org/10.1016/s0167-4889(97)00063-3)
 20. Lammering G., Valerie K., Lin P.S. et al. Radiation-induced activation of a common variant of EGFR confers enhanced radioresistance // *Radiother. Oncol.* 2004. V. 72. № 3. P. 267–273.
<https://doi.org/10.1016/j.radonc.2004.07.004>
 21. Park C.M., Park M.J., Kwak H.J. et al. Ionizing radiation enhances matrix metalloproteinase-2 secretion and invasion of glioma cells through Src/epidermal growth factor receptor-mediated p38/Akt and phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling pathways // *Cancer Res.* 2006. V. 66. № 17. P. 8511–8519.
<https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-4340>
 22. Xu W., Luo T., Li P. et al. RGD-conjugated gold nanorods induce radiosensitization in melanoma cancer cells by downregulating $\alpha(v)\beta3$ expression // *Int. J. Nanomed.* 2012. V. 7. P. 915–924.
<https://doi.org/10.2147/IJN.S28314>
 23. Schweigerer L., Rave-Frank M., Schmidberger H., Hecht M. Sublethal irradiation promotes invasiveness of neuroblastoma cells // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2005. V. 330. № 3. P. 982–988.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.03.068>
 24. Valerie K., Yacouba A., Hagan M.P. et al. Radiation-induced cell signaling: inside-out and outside-in // *Mol. Cancer Ther.* 2007. V. 6. P. 789–801.
<https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-06-0596>
 25. Hammond E.M., Giaccia A.J. The role of ATM and ATR in the cellular re-sponse to hypoxia and re-oxygenation // *DNA Repair (Amst.).* 2004. V. 3. P. 1117–1122.
<https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2004.03.035>
 26. Barzilai A., Yamamoto K. DNA damage responses to oxidative stress // *DNA Repair (Amst.).* 2004. V. 3. P. 1109–1115.
<https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2004.03.002>
 27. Amundson S.A., Bittner M., Fornace A.J. et al. Functional genomics as a window on radiation stress signaling // *Oncogene.* 2003. V. 22. P. 5828–5833.
<https://doi.org/10.1038/sj.onc.1206681>
 28. Astsaturov I., Cohen R.B., Harari P. et al. Targeting epidermal growth factor receptor signaling in the treatment of head and neck cancer // *Expert. Rev. Anticancer Ther.* 2006. V. 6. P. 1179–1193.
<https://doi.org/10.1586/14737140.6.9.1179>

29. *Burhans W.C., Heintz N.H.* The cell cycle is a redox cycle: Linking phase-specific targets to cell fate // *Free Radical Biol. Med.* 2009. V. 47. I. 9. P. 1282–1293. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2009.05.026>
30. *Vanhaesebroeck B., Alessi D.R.* The PI3K-PDK1 connection: more than just a road to PKB // *Biochem. J.* 2000. V. 346. P. 561–576.
31. *Han J., Lee J.D., Bibbs L. et al.* A MAP kinase targeted by endotoxin and hyperosmolarity in mammalian cells // *Sci.* 1994. V. 265. P. 808–811. <https://doi.org/10.1126/science.7914033>
32. *Wang X., Tournier C.* Regulation of cellular functions by the ERK5 signalling pathway // *Cell Signal.* 2006. V. 6. P. 753–760. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2005.11.003>
33. *Shvartsman S.Y., Hagan M.P., Yacoub A. et al.* Auto-crine loops with positive feedback enable context-dependent cell signaling // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2002. V. 3. P. 545–559. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00260.2001>
34. *Fang L., Li G., Liu G.* p53 induction of heparin-binding EGF-like growth factor counteracts p53 growth suppression through activation of MAPK and PI3K/Akt signaling cascades // *EMBO J.* 2001. V. 8. P. 1931–1939. <https://doi.org/10.1093/emboj/20.8.1931>
35. *Sheikh M.S., Carrier F., Johnson A.C. et al.* Identification of an additional p53-responsive site in the human epidermal growth factor receptor gene promoter // *Oncogene.* 1997. V. 9. P. 1095–1101. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1201264>
36. *Weizman N., Shilo Y., Barzilay A. et al.* Contribution of the Atm protein to maintaining cellular homeostasis evidenced by continuous activation of the AP-1 pathway in Atm-deficient brains // *J. Biol. Chem.* 2003. V. 278. P. 6741–6747. <https://doi.org/10.1074/jbc.M211168200>
37. *Panta G.R., Kaur S., Cavin L.G. et al.* ATM and the catalytic subunit of DNA-dependent protein kinase activate NF- κ B through a common MEK/extracellular signal-regulated kinase/p90(rsk) signaling pathway in response to distinct forms of DNA damage // *Mol. Cell Biol.* 2004. V. 24. P. 1823–1835. <https://doi.org/10.1128/MCB.24.5.1823-1835.2004>
38. *Rashi-Elkeles S., Elkon R., Weizman N. et al.* Parallel induction of ATM-dependent pro- and antiapoptotic signals in response to ionizing radiation in murine lymphoid tissue // *Oncogene.* 2006. V. 25. P. 1584–1592. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1209189>
39. *Spranger S., Gajewski T.F.* Tumor-intrinsic oncogene pathways mediating immune avoidance // *Oncoimmunology.* 2016. V. 5. P. e1086862. <https://doi.org/10.1080/2162402X.2015.1086862>
40. *Iannello A., Thompson T.W., Ardolino M. et al.* p53-dependent chemokine production by senescent tumor cells supports NKG2D-dependent tumor elimination by natural killer cells // *J. Exp. Med.* 2013. V. 210. P. 2057–2069. <https://doi.org/10.1084/jem.20130783>
41. *Babar I.A., Slack F.J., Weidhaas J.B.* MicroRNA modulation of the cellular stress response // *Future Oncol.* 2008. V. 4. № 2. P. 289–298. <https://doi.org/10.2217/14796694.4.2.289>
42. *Huntzinger E., Izaurralde E.* Gene silencing by microRNAs: contributions of translational repression and mRNA decay // *Nat. Rev. Genet.* 2011. V. 12. P. 99–110. <https://doi.org/10.1038/nrg2936>
43. *Jo M.H., Shin S., Jung S.R. et al.* Human Argonaute 2 Has diverse reaction pathways on Target RNAs // *Mol. Cell.* 2015. V. 59. P. 117–124. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.04.027>
44. *O'Brien J., Hayder H., Zayed Y. and Peng Ch.* Overview of MicroRNA Biogenesis, Mechanisms of Actions, and Circulation // *Front. Endocrinol.* 2018. V. 9. H. 402. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00402>
45. *Wagner-Ecker M., Schwager C., Wirkner U. et al.* MicroRNA expression after ionizing radiation in human endothelial cells // *Radiat. Oncol.* 2010. V. 5. № 1. P. 1–10. <https://doi.org/10.1186/1748-717X-5-25>
46. *Lhakhang T.W., Chaudhry A.M.* Interactome of Radiation-Induced microRNA-Predicted Target Genes // *Comparative and Functional Genomics.* 2012. P. 1–12. <https://doi.org/10.1155/2012/569731>
47. *Dent P., Yacoub A., Fisher P.B.* MAPK pathways in radiation responses // *Oncogene.* 2003. V. 22. № 37. P. 5885–5896. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1206701>
48. *Sakurai T., Ueda T., Kawai M.* Protective effects of insulin-like growth factor-I on the decrease in myogenic differentiation by ionizing radiation // *Int. J. Radiat. Biol.* 2009. V. 85. № 2. P. 153–158. <https://doi.org/10.1080/09553000802641177>
49. *Podralska M., Ciesielska S., Kluiver J. et al.* Non-Coding RNAs in Cancer Radiosensitivity: MicroRNAs and lncRNAs as Regulators of Radiation-Induced Signaling Pathways // *Cancers (Basel).* 2020. V. 12. № 6. P. 1662. <https://doi.org/10.3390/cancers12061662>
50. *Sandfort V., Koch U., Cordes N.* Cell adhesion-mediated radioresistance revisited // *Int. J. Radiat. Biol.* 2007. V. 83. P. 727–732. <https://doi.org/10.1080/09553000701694335>
51. *Pesty A., Doussau M., Lahaye J.B.* Whole-body or isolated ovary ^{60}Co irradiation: effects on in vivo and in vitro folliculogenesis and oocyte maturation // *Reproduc. Toxicol.* 2010. V. 29. P. 93–98. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2009.10.007>
52. *Kang T., Wei Y., Honaker Y. et al.* GSK-3 β targets Cdc25A for ubiquitin-mediated proteolysis, and GSK-3 β inactivation correlates with Cdc25A overproduction in human cancers // *Cancer Cell.* 2008. V. 13. P. 36–47. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2007.12.002>
53. *Чумаков М.П.* Белок P53 и его универсальные функции в многоклеточном организме // *Успехи биол. химии.* 2007. Т. 47. С. 3–52. [*Chumakov P.M.* Belok 53 i ego universalnye funktsii v mnogokletchnom organizme // *Uspekhi biologicheskoi khimii.* 2007. V. 47. P. 3–52. (In Russian)]
54. *He L., He X., Lim L.P. et al.* A microRNA component of the p53 tumour suppressor network // *Nature.* 2007.

- V. 447. P. 1030–1038.
<https://doi.org/10.1038/nature05939>
55. Jänicke R. U., Engels I. H., Dunkern T. Cancer drugs and gamma-irradiation induce different caspase-3 activation pathways upstream of mitochondria // *Oncogene*. 2001. V. 20. P. 5043–5053.
 56. Liu C., Zhou C., Gao F. et al. MiR-34a in Age and Tissue Related Radio-Sensitivity and Serum miR-34a as a Novel Indicator of Radiation Injury // *Int. J. Biol. Sci.* 2011. V. 7. P. 221–233.
<https://doi.org/10.7150/ijbs.7.221>
 57. Комарова Е.А., Гудков А.В. Супрессия P53: новый подход к преодолению побочных эффектов противоопухолевой терапии // *Биохимия*. 2000. Т. 65. № 1. С. 48–86. [Komarova E.A., Gudkov A.V. Supressiya r53: novyj podhod k preodoleniyu pobochnyh efektov protivopuholevoj terapii // *Biochemistry (Moscow)*. 2000. V. 65. № 1. P. 48–86. (in Russian)]
 58. Komarov P.G., Komarova E.A., Kondratov R.V. et al. A chemical inhibitor of p53 that protects mice from the side effects of cancer therapy // *Science*. 1999. V. 285. P. 1733–1737.
<https://doi.org/10.1126/science.285.5434.1733>
 59. Gudkov A.V. and Komarova E.A. Prospective therapeutic applications of p53 inhibitors // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2005. V. 331. № 3. P. 726–736.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.03.153>
 60. Zhu J., Singh M., Selivanova G. et al. Pifithrin- α alters p53 post-translational modifications pattern and differentially inhibits p53 target genes // *Scient. Rep.* 2020. V. 10. P. 1049.
<https://doi.org/10.1038/s41598-020-58051-1>
 61. Vurusaner B., Poli G., Basaga H. Tumor suppressor genes and ROS: Complex networks of interactions // *Free Radic. Biol. Med.* 2012. V. 52. P. 7–8.
<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.09.035>
 62. Shi Y., Zhang X., Tang X. MiR-21 is continually elevated long-term in the brain after exposure to ionizing radiation // *Radiat. Res.* 2012. V. 177. № 1. P. 124–128.
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Wang%20P%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=22034847
<https://doi.org/10.1667/rr2764.1>
 63. Meyna R.E., Munshia A., Haymach J.V. et al. Receptor signaling as a regulatory mechanism of DNA repair // *Radiother. Oncol.* 2009. V. 92. № 3. P. 316–322.
<https://doi.org/10.1016/j.radonc.2009>
 64. Михайлов В.Ф., Засухина Г.Д. Новый подход к стимуляции защитных систем организма малыми дозами радиации // *Успехи совр. биологии*. 2020. Т. 130. № 3. С. 244–252. [Mikhailov V.F., Zasukhina G.D. A New approach to stimulating body's defense systems with low radiation doses // *Biol. Bull. Rev.* 2020. V. 130. № 3. P. 244–252. (In Russian)]
 65. Strom T., Harrison L., Giuliano A. Tumour radiosensitivity is associated with immune activation in solid tumours // *Eur. Cancer.* 2017. V. 84. P. 304–314.
<https://doi.org/10.1016/j.ejca.2017.08.001>

Regulation of Gene Activity is One of the Mechanisms of Radiosensitivity Change

© 2021 г. **V. F. Mikhailov^a** and **L. V. Shulenina^{a, #}**

^a State Research Center – Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

[#]E-mail: shulenina2010@mail.ru

The efficient functioning of cells in the body is carried out using intracellular signaling pathways, the activation of which leads to a change in the genome expression profile. Differential activation and repression of genes can cause changes in the radiosensitivity of cells. The effect of radiation on the state of some signaling pathways, as well as microRNA is investigated based on the literature data and the results obtained by us in the experiment. The possibility of changing the radiosensitivity of cells when exposed to signaling pathways that trigger programs of cell death or proliferation is analyzed. Approaches of targeted action on the P53-dependent system of maintaining the genome stability to increase post-radiation survival, as well as the significance of this system in the formation of long-term consequences of radiation exposure, are considered.

Keywords: radiosensitivity, intracellular signaling pathways, radioprotective compounds, gene expression, P53, microRNA