

10. Mert A. Erythema nodosum: an evaluation of 100 cases. *Clin Exp Rheumatol* 2007;25(4):563—70.
11. Simila S., Pietilla J. The changing etiology of erythema nodosum in children. *Acta Tuberc Scand* 1965;46:159—68.
12. Nekhlyudov L., Gradzka M., Conti-Kelly A.M., Greco T.P. Erythema nodosum associated with antiphospholipid antibodies: a report of three cases. *Lupus* 2000;9:641—5.
13. Garcia-Porruc A., Gonzalez-Gay M.A., Vazquez-Caruncho M. et al. Erythema nodosum: etiologic and predictive factors in defined population. *Arthr Rheum* 2000;43:584—92.
14. Ревматология: клинические рекомендации. Под ред. Е.Л. Насонова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010;752 с.
15. Ajubi N., Nossent J.C. Panniculitis as the first manifestation of systemic lupus erythematosus: description of two cases. *Neth J Med* 1993;42(1—2):25—9.
16. Yamamoto T., Yokoyama A., Yamamoto Y., Mamada A. Erythema nodosum associated with Sjögren's syndrome. *Br J Rheumatol* 1997;36(6):707—8.
17. Remondino G.I., Mysler E., Pissano M.N. et al. A reversible bilateral renal artery stenosis in association with antiphospholipid syndrome. *Lupus* 2000;9(1):65—7.
18. Alpsoy E., Zouboulis C.C., Ehrlich G.E. Mucocutaneous lesions of Behcet's disease. *Yonsei Med J* 2007;48(4):573—85.
19. Van Trimpont P., Dubois J.L., Dequeker J. Acute polyarthritis in *Yersinia enterocolitica* infection. 4 cases in Belgium. *Rev Rheum Mal Osteoartic* 1976;43(2):117—21.
20. Раденска-Лоповок С.Г., Решетняк Т.М., Забек Я., Войцеховска Б. Морфологические особенности сосудов при антифосфолипидном синдроме. 2006. www.rheumatolog.ru
21. Алекберова З.С., Голоева Р.Г., Елонаков А.В. Болезнь Бехчета у детей. *Рус мед журн* 2006;14(25):1783—5.
22. Picco P., Gattorno M., Vignola S. et al. Clinical and biological characteristics of immunopathological disease-related erythema nodosum in children. *Scand J Rheumatol* 1999;28(1):27—32.
23. Stiefelhagen P. Even in fever, joint pain and erythema: *Borrelia* antibodies do not prove Lyme disease. *MMW Fortschr Med* 2006;148(11):14.
24. Ананьева Л.П., Скрипникова И.А. Болезнь Лайма — системная инфекция с кожными проявлениями. *Вестн дерматол* 1995;1:32—6.
25. Вермель А.Е. Узловатая эритема в клинике внутренних болезней. *Клин мед* 2004;4:4—9.
26. Heindl E. Erythema nodosum staphylococci in lymphogranulomatosis. *Hautarzt* 1965;16(10):453—5.
27. Löfgren S. Primary pulmonary sarcoidosis. *Acta Med Scand* 1953;145:424—31.
28. Marie I., Lecomte F., Levesque H. et al. Löfgren's syndrome as the first manifestation of acute infection due to *Chlamydia pneumoniae*: a prospective study. *Clin Infect Dis* 1999;28:691—2.
29. Sams W.M., Winkelmann R.K. The association of erythema nodosum with ulcerative colitis. *South Med J* 1968;61:676—9.
30. Mc Callum D.I., Kinmont P.D. Dermatological manifestations of Crohn's disease. *Br J Dermatol* 1968;80:1—8.
31. Ginarte M., Toribio J. Association of Sweet syndrome and erythema nodosum. *Arch Dermatol* 2000;136:673—4.
32. Suzuki Y., Kuroda K., Kojima T. et al. Unusual cutaneous manifestations of myelodysplastic syndrome. *Br J Dermatol* 1995;133:483—6.
33. Jones J.V., Cumming R.H., Asplin C.M. Evidence for circulating immune complexes in erythema nodosum and early sarcoidosis. *Ann NY Acad Sci* 1976;278:212—9.
34. Winkelmann R.K., Fostrom L. New observations in the histopathology of erythema nodosum. *J Invest Dermatol* 1975;65:441—6.
35. Niemi K.M., Forstrom L., Hannuksela M. et al. Nodules on the legs. *Acta Derm Venereol* 1977;57:145—54.
36. Nunnery E., Persellin R.H., Pope R.M. Lack of circulating immune complexes in uncomplicated erythema nodosum. *J Rheumatol* 1983;10:991—4.
37. Kunz M., Beutel S., Brocker E. Leucocyte activation in erythema nodosum. *Clin Exp Dermatol* 1999;24:396—401.
38. Визель А.А., Гурьева М.Э. Саркоидоз. *Consilium medicum* 2002;4(4):34—9.
39. Cohen P.R. Sweet syndrome and erythema nodosum. *South Med J* 2007;100(10):1057—8.
40. Моисеев С.В., Корнев Б.М. Узловатая эритема: ревматизм или саркоидоз? *Новый мед журн* 1996;1—2:8—10.
41. Cascina A., Marone Bianco A., Mangiarotti P. et al. Cutaneous vasculitis and reactive arthritis following respiratory infection due to *Chlamydia pneumoniae*: report of a case. *Clin Exp Rheumatol* 2002;20(6):845—7.
42. Yokoyama S., Kasahara M., Fukuda A. et al. Epstein-Barr virus-associated erythema nodosum after living-donor liver transplantation: a case report. *Liver Transpl* 2009;15(4):446—8.
43. Львов Н.Д., Мельниченко А.В., Никитина А.А. и др. Лабораторная диагностика герпесвирусных инфекций человека. *Вопр вирусол* 2000;4:7—13.
44. Kim B., LeBoit P.E. Histopathologic features of erythema nodosum-like lesions in Behcet disease: a comparison with erythema nodosum focusing on the role of vasculitis. *Am J Dermatopathol* 2000;22:379—90.
45. Jackson L.A., Campbell L.A., Schmidt R.A. et al. Specificity of detection of *Chlamydia pneumoniae* in cardiovascular atheroma: evaluation of the innocent bystander hypothesis. *Am J Pathol* 1997;150(5):1785—90.
46. Sanchez Yus E., Sanz Vico M.D., de Diego V. Miescher's radial granuloma: a characteristic marker of erythema nodosum. *Am J Dermatopathol* 1989;11:434—42.
47. White W.L., Hichcock M.G. Diagnosis: erythema nodosum or not? *Sem Cutan Med Surg* 1999;18:47—55.
48. Demirkesen C., Tuzuner N., Mat C. et al. Clinicopathologic evaluation of nodular cutaneous lesions of Behcet syndrome. *Am J Clin Pathol* 2001;116:341—6.

Поступила 06.04.10

А.И. Дубиков

Владивостокский государственный медицинский университет, Владивосток

БЕЛОК Р-53: НОВАЯ ЖИЗНЬ СТАРОЙ МОЛЕКУЛЫ. Часть II

Контакты: Александр Иванович Дубиков aihavlad@online.vladivostok.ru
Contact: Aleksandr Ivanovich Dubikov aihavlad@online.vladivostok.ru

С тех пор как были опубликованы работы, описывающие стрессорное фосфорилирование и ацетилирование белка р-53, появилось большое количество исследований, детально раскрывающих эти и другие модификации молекулы р-53, в том числе с анализом их влияния на функции р-53 как транскрипционного белка-регулятора [1—3].

Влияние фосфорилирования на функции белка р-53

Серин 46 (S46) и N-терминальный сайт фосфорилирования в молекуле человеческого р-53 обладают свойствами влиять на функцию р-53 как активатора транскрипции. Фосфорилирование этих остатков коррелирует с опосредованной р-53 транскрипционной программой, которая включает

индукцию p53AIP1 (p53-regulated apoptosis-inducing protein 1, p53-регулируемый апоптоз-индуцирующий белок 1), про-апоптотического фактора, обеспечивающего высвобождение митохондриального цитохрома С в процессе апоптоза. Одна из протеинкиназ, принимающих участие в фосфорилировании p-53, — HIPK2 (homeodomain interacting protein kinase 2, гомеодомен взаимодействующая протеинкиназа 2) [4] — белок, регулируемый супрессором опухолей Axin [5]. В условиях умеренного повреждения ДНК p-53-негативный регулятор, белок Mdm 2, вызывает деградацию HIPK2. В свою очередь, тяжелое повреждение ДНК приводит к снижению уровня Mdm 2, позволяя стабильному HIPK2 фосфорилировать p-53 в S46-позиции с последующей смертью клетки [6]. Результаты этих исследований позволяют обозначить белок Mdm 2 как определяющий судьбу клетки и регулируемый p-53 [7]. Наблюдения подтвердили упомянутую ранее точку зрения, что в зависимости от тяжести повреждения протеин p-53 может действовать как фактор, способствующий выживанию, или наоборот.

Существуют и другие протеинкиназы, участвующие в фосфорилировании S46-остатка. Это DYRK2 (dual-specificity tyrosine-phosphorylation-regulated kinase 2, двойной специфичности регулируемая фосфорилированием тирозина киназа 2), протеинкиназа С дельта и p-38 митоген-активированная протеинкиназа [8–10]. Эти протеинкиназы иллюстрируют важность сайта S46 в определении функции молекулы p-53.

S58 в молекуле мышинного белка p-53 является коррелятом S56 в молекуле человеческого p-53. Было бы интересно изучить физиологические последствия мутации этого сайта на мышинных моделях [11].

Фосфорилирование С-терминального сайта белка p-53 также связано с избранным влиянием на целевую экспрессию генов и ее последствия. S315 является своего рода уникальным сайтом фосфорилирования молекулы p-53, поскольку он фосфорилируется киназами, способствующими процессам роста. Фосфорилирование S315 определяет способность p-53 к угнетению так называемого Nanog, фактора, необходимого для самообновления стволовых клеток при участии транскрипционного регулятора и корепрессора mSin3A.

Мыши с мутантной формой белка p-53 в результате замены на аланин в остатке S315 (S315A) не способны к репрессии Nanog. Фактор транскрипции E2F способен задерживать p-53 в ядре клетки при непосредственном участии S315 [12], в то время как связывание с этим сайтом GSK β (glycogen synthase kinase β , гликоген синтаза киназы β) вызывает задержку p-53 в цитоплазме клетки с последующей его дестабилизацией [13]. В пределах С-окончания молекулы p-53 присутствуют S366 и T387 (треонин 387) сайты, которые способны связываться с киназами Chk1 и Chk2 (checkpoint kinases, киназы контрольных точек). Снижение активности Chk-киназ или мутация S366 и T387 избирательно нарушают активацию p-53, процессы связывания и ацетилирования [14]. У мышей замещение S389 на аланин приводит к нарушению экспрессии некоторых целевых для p-53 генов и, в общем, уменьшает репрессию молекулярных целей p-53 в клетках, подвергшихся ультрафиолетовому облучению [15, 16]. Хотя многое еще предстоит выяснить о том, как фосфорилирование в различных местах влияет на активность p-53, ясно, что физиологические последствия такого фосфорилирования в некоторых сайтах определенно изменяют экспрессию генов.

Роль лизина в функции молекулы p-53

Ряд исследований показали существенную роль лизинового остатка, расположенного в концевом сегменте С-окончания, в активации белка p-53. Мыши с заменой лизина на аргинин имели слабый фенотип [17, 18]. Возможное объяснение подобного эффекта нашлось в идентификации двух мест ацетилирования в центральной зоне стержневого домена p-53. Первый, K120 (лизин 120), ацетируется в ответ на повреждение ДНК и увеличивает экспрессию гена белка PUMA, но не гена белка Mdm2. Две гистоновые ацетилазны, Tip60 и hMOF, способны ацетилировать K120 [19, 20]. Клетки, экспрессирующие мутантную форму p-53 с заменой K120 на аргинин (K120R), демонстрируют частичные дефекты апоптоза. Необходимо отметить, что если экспрессия мутантного K120 находится в пределах физиологического уровня, то дефекты апоптоза проявляются сильнее, чем в случае его преходящей гиперэкспрессии. Это указывает на то, что гиперэкспрессия p-53 может сопровождаться противоположными ожидаемым эффектами [21].

Второй сайт ацетилирования, K164, модифицируется коактиватором транскрипции p300 и CBP (CREB-binding protein, связывающий CREB белок) и, очевидно, является необходимым для индукции экспрессии большинства целевых генов белка p-53 [22]. В случае мутации всех шести лизинового остатков концевой сегмента С-окончания молекулы p-53 в сочетании с мутацией K120 и K164 результатом является новый протеин (p53KR), инертный по своей сути. Эта мутантная форма протеина утрачивает транскрипционную активность, необходимую для стимуляции экспрессии большого количества целевых генов, включая гены, кодирующие p21, PUMA, Bax и PIG3 (p53-inducible gene 3, p-53 индуцируемый ген 3). Mdm2-промоутер является существенным исключением: экспрессия Mdm2 вызывается белком p53KR аналогично обычному белку p-53. Что же особенно есть в Mdm2-промоутере и его регуляции белком p-53? Возможно, Mdm2-промоутер слабо связан с нуклеосомами в сравнении с другими белковыми мишенями p-53.

Факты, указывающие на то, что p300 и CBP являются ключевыми белками в реализации p-53-опосредованного апоптоза или остановке клеточного цикла, подтверждаются наблюдениями, в которых F-box белок Skp2 предотвращает связывание p300 и ацетилирование p-53, ведущее к снижению экспрессии таких мишеней p-53, как PUMA и p21 [23]. Однако эти данные должны быть согласованы с наблюдениями, в которых целевое удаление p300 в человеческих клетках рака кишечника HCT116 сопровождалось снижением экспрессии p21, но увеличением экспрессии PUMA с соответствующим результатом в виде преобладания апоптоза над остановкой клеточного цикла [24].

K320 в молекуле p-53 является субстратом для PCAF (P300/CBP-associated factor, P300/CBP-ассоциированный фактор). Это лизинового остатка, который играет интересную роль в выборе целевых генов p-53. Клетки, эктопически экспрессирующие мутантную форму p-53, в которой K320 замещен на глутамин, демонстрируют сниженную способность к апоптозу после некоторых форм повреждения ДНК. Хотя мутантная форма K320 способна индуцировать экспрессию p21, она не в состоянии вызвать экспрессию гена APAF1 (apoptotic peptidase-activating factor 1, апоптотический активирующий пептидазу фактор 1) [25]. Ацетилированный K320 преимущественно активирует две транскрипционные цели p-53 (Coronin 1b и Rab13), которые участвуют в процессе аксональной регенерации [26].

Конечно, мутации лизина сопровождаются не только потерей способности p-53 к ацетилированию. Другие модификации лизина, например метилирование, также имеют потенциал влияния на транскрипционную активность молекулы p-53. Результаты экспериментов с замещением аминокислоты должны рассматриваться не как определенные, но как контекстные. Протеин E4F1, впервые идентифицированный как клеточная цель аденовирусного протеина E1a, убиквитинирует белок p-53 в позиции K320. Интересно, что убиквитинирование в этой позиции не вызывает дестабилизации молекулы p-53. Более того, это даже усиливает способность p-53 активировать *p21*- и *cyclin G1*-экспрессию без влияния на активность проапоптотического гена *Noxa*. Это согласуется с наблюдениями, в которых *E4F1*-экспрессия сопровождалась значимой регрессией ультрафиолет-индуцированной p-53-опосредованной клеточной смерти [27]. Неожиданно PCAF, фактор, ацетилирующий p-53 в позиции K320, проявляет E3 убиквитинлигаза активность по отношению к белку Mdm2 [28]. Будущие исследования могут прояснить вопрос о взаимоотношениях между PCAF и E4F1 в регуляции p-53 и Mdm2.

Что касается модификации лизиновых остатков молекулы p-53, то именно метилирование является предметом особого интереса. Метилирование K372 SET домен метилтрансферазой Set9 приводит к увеличению экспрессии *p21* [29], но является ли это селективной активацией — не установлено. K370 метилируется метилтрансферазой Smyd2, что приводит к репрессии транскрипционной активности p-53 [30].

Функциональное значение модификации лизиновых остатков молекулы p-53 усложняется взаимоотношениями между процессами их метилирования и ацетилирования [31]. В частности, метилирование K372 белком Set7/9 вызывает повреждением ДНК и коррелирует с повышением интенсивности ацетилирования лизиновых остатков C-окончания p-53, включая K382.

Все перечисленное выше касается комбинаторных возможностей, сопровождающих модификацию лизиновых остатков белка p-53. По мере дальнейшей аккумуляции этих данных понадобится мощная программная и компьютерная поддержка для реконструкции их влияния на функции p-53 и клеточные исходы. В то же время продолжают появляться новые данные о модификациях молекулы p-53. Недавно было описано, что PRMT5 (protein arginine methyltransferase 5, белок аргинин метилтрансфераза 5) участвует в метилировании как минимум двух аргининовых остатков (R333 и R335) [32]. Деpletion PRMT5 в культурах человеческих раковых клеток приводит к увеличению интенсивности апоптоза на фоне снижения активности p21 и умеренного повышения активности проапоптотических белков Puma и Noxa.

Коалиция партнеров молекулы p-53

Множество нековалентных модификаций белка p-53 обладают определенными способностями активировать или репрессировать гены-мишени. Существуют сложные взаимоотношения между модификациями p-53 и субстратами их связывания. Наиболее хорошо изученными «партнерами» молекулы p-53 являются белки Mdm2 и MdmX. Опубликованы детальные обзоры об их взаимодействии [33–36].

Остановимся только на последних данных. Недавнее исследование, показавшее, что потеря p-53 приводит к снижению ранней летальности у мышей с мутацией Mdm2 (отсутствует активность лигазы E3), указывает на первичную роль Mdm2 в деградации p-53 [37]. Как было показано,

Mdm2 способен уменьшать ацетилирование белка p-53, смещая остаток p300, ингибируя и разрушая белок PCAF [38, 39]. Mdm2 также может рекрутировать гистоновые деацетилазы HDAC1 и KAP1, являющиеся дополнительными инструментами, с помощью которых Mdm2 репрессировывает ацетилирование p-53 или гистонов в местах связывания с p-53. Mdm2, экспрессируемый из эндогенных локусов, ассоциируется с p-53 в зоне *p21*-промоутера [22, 40]. Гиперэкспрессируемый эктопически Mdm2 (MdmX) связывается с некоторыми другими целевыми промоутерами p-53, за исключением самого *Mdm2*-промоутера [22].

Повышение в 2 раза уровня Mdm2 в клетках линии H1299 в условиях тетрациклин-регулируемой экспрессии p-53 сопровождается снижением уровня pIG3, но не влияет на экспрессию *p21* и *Bax* [40]. В связи с наличием способности смещать деацетилазы или убиквитинировать гистон H2B, а возможно, и через другие механизмы белок Mdm2 ассоциируется с молекулой p-53 в зоне промоуторов генов-мишеней, тем самым отрицательно влияя на транскриптацию p-53 [41].

Вопрос, как и где MdmX регулирует p-53, является объектом активных исследований. Возможно, наиболее intriguing предмет изучения в этой области является взаимодействие Mdm2 и MdmX в регуляции p-53.

Интересной особенностью p-53 является возможность избирательно активировать экспрессию различных генов. В области N-окончания молекула p-53 несет транскрипционные домены (TAD: TAD1 в диапазоне остатков 20–40 и TAD2 в диапазоне остатков 40–60), а также домен, богатый пролином (занимающий диапазон 60–90), способный к транскрипции, возможно, в содружестве с TAD2 [42]. Потеря функций TAD1 достигается одновременной мутацией лейцина 22 (L22) и триптофана 23 (T23) (p53L22Q/W23S), что приводит к формированию мутантной формы p-53, белка, теоретически неспособного выполнять транскрипционные функции. Тем не менее недавние исследования показали, что такая молекула p-53 способна активировать набор проапоптотических мишеней в мышиных клетках [43, 44].

Эти факты показали, что домен, богатый пролином, и TAD2 способны функционировать в автономном режиме, проявляя транскрипционную активность. Несмотря на то что TAD1 и TAD2 могут работать независимо друг от друга, необходимо их взаимодействие, чтобы вовлечь в реакции транскрипционные компоненты сложного комплекса STAGA, а именно GCN5, Taf9, и ADA2b для активации таких целевых генов, как *p21*, *PUMA* и *GADD45* [45]. Более того, p-53-опосредованная транскрипционная репрессия, вызванная гипоксией, требует взаимодействия TAD1 и TAD2 [46]. Основываясь на исследованиях p53L22Q/W23S, можно предположить, что комплекс STAGA не всегда необходим для активации некоторых мишеней молекулы p-53. Другие регионы белка p-53 также обладают транскрипционной способностью и могут использовать определенные факторы для индукции экспрессии генов. Малые молекулы, такие как Nutlin и Id, которые связываются с Mdm2 и разрушают взаимодействие Mdm2 с TAD1, могут существенно усилить экспрессию и активность молекулы p-53 [47, 48]. В противоположность Nutlin, вызывающему остановку клеточного цикла, другая малая молекула RITA, способная связываться с p-53 и препятствовать его взаимодействию с Mdm2, индуцирует апоптоз и уменьшает экспрессию p21 в некоторых клетках [49]. Реализуют ли эти малые молекулы

свои эффекты через различные активационные зоны молекулы p-53 — вопрос, заслуживающий особого внимания.

Хотя свойства самой молекулы p-53 являются критическими в определении характера ответной реакции клетки в виде апоптоза или клеточной смерти, все увеличивающийся репертуар клеточных факторов, взаимодействующих с p-53, также определяет специфический ответ клетки. Неудивительно, что существуют очень тонкие взаимоотношения между способностью p-53 активировать гены и механизмами транскрипции.

Выявлены новые белки, определяющие характер конечного клеточного ответа при взаимодействии с p-53. Например, хорошо изученный полиморфизм p-53 в кодоне 72, где остаток может быть пролиновым или аргининовым, сопровождается различными клеточными реакциями в зависимости от варианта p-53: аргининовый вариант белка обладает большими проапоптотическими свойствами, чем пролиновый [50]. Член семейства ASPP, iASPP, преимущественно связывается с пролиновым вариантом p-53 и ингибирует его активность, механистически объясняя, почему аргининовый вариант p-53 имеет большую проапоптотическую активность [51]. В качестве примера взаимодействия модификации p-53 с регуляторными белками можно привести пептидил-пролил цистранс-изомеразу Pin1, которая распознает белок p-53, фосфорилированный в S46, приводя к диссоциации iASPP от молекулы p-53, что способствует развитию апоптоза [52]. Другим примером белка, связывающимся с p-53 и определяющим различные клеточные реакции, является p38-регулируемый белок p18/Hamlet, который ассоциируется с p-53, усиливая апоптотический ответ и активируя некоторые промоутеры генов (*Noxa*, но не *Puma*, *Bax*, *p21*) [53]. Интересно, что циклин G, сам являющийся целью p-53, может снижать уровень p18/Hamlet, обеспечивая иной вариант регуляции p-53-опосредованного клеточного ответа. Другой белок, Bm3a, связывается с p-53 и избирательно ингибирует его способность активировать промоутеры *Bax* и *Noxa*, тем самым предотвращая апоптоз. Однако Bm3a, взаимодействуя с p-53, также активирует экспрессию генов в зоне ответственности промоутера *p21* [54]. Остается выяснить, есть ли прямая конкуренция между белками Bm3a и p18/Hamlet, или существует скоординированное взаимодействие.

Интересным регулятором генов-мишеней p-53 является субъединица p-52 фактора транскрипции Nf κ B, который ингибирует экспрессию *p21*, но вместе с p53 усиливает экспрессию *Puma*, *DR5* и *Gadd45* [55]. В случае *Puma*, гликопротеина мембраны с частой гиперэкспрессией при раке, наблюдается его взаимодействие с *p21*, независимое от p-53, с последующей активацией транскрипции *p21*. Интересно, что Muc1 ассоциируется с *Bax* в независимой от p-53 манере, ингибируя экспрессию *Bax*. Соответственно регуляторным функциям Muc1 количество последнего в клетке положительно коррелирует с остановкой клеточного цикла и выживанием клетки, но отрицательно — с апоптозом клетки [56].

Белок YB1 имеет схожее влияние на молекулу p-53. Ассоциируясь с p-53, он блокирует экспрессию *Bax*, но не влияет на индукцию экспрессии *p21* [57]. К мириадам белков, взаимодействующих с p-53 и влияющих на его активность, недавно были добавлены новые. Однако они не обладают способностью селективно активировать гены-мишени молекулы p-53. Среди этих белков упоминается Sug1 (компонент протеосомы 19S), hnRNP (heterogeneous ribonucleoprotein particle K, гетерогенная частица рибонуклеопротеина K), Hbo1, KLF5, NF-Υ, тяжелая цепь clathrin и рецептор TR3 [58–62].

В итоге, не все белки, влияющие на транскрипционную активность молекулы p-53 и, соответственно, тип клеточной реакции, взаимодействуют напрямую с p-53. Ярким примером является «мистический» регулятор p-53, некодирующая РНК, экспрессируемая в зоне локуса гена *MEG3*. Складывается впечатление, что эта РНК избирательно влияет на активность p-53 через супрессию *Mdm2* с последующим увеличением активности p-53 и активацией как минимум одного целевого гена (growth differentiation factor 15, фактор дифференцированного роста 15; *GDF15*), но без влияния на транскрипцию *p21* [63]. Другим примером непрямого регулирования активности белка p-53 является репрессор транскрипции *Zbt4*, который формирует гетеротримерный комплекс с корепрессором Sin3 и фактором транскрипции Miz1 с целью угнетения p-53-опосредованной индукции *p21* и остановки клеточного цикла [64]. Репрессор транскрипции *Slug* является еще одним примером непрямого взаимодействия белка-регулятора с молекулой p-53. Ген, кодирующий *Slug*, служит мишенью для p-53. Белок *Slug* связывается с p-53-индуцируемым промоутером *Puma*, репрессируя и экспрессию гена, и лучевой апоптоз в клетках кроветворной системы [65]. Другой фактор, связывающийся с генами-мишенями p-53 независимо от самого белка p-53 (например, с *PIG3* и *AIP1* но не с *p21* или *Puma*), — ядерный транспортный фактор hCas/Cse1L, который взаимодействует с p-53, чтобы активировать только те гены, с которыми он связывается.

Таким образом, к настоящему времени описано большое количество транскрипционных механизмов, определяющих характер клеточного ответа при активации молекулы p-53. Концентрация p-53, его модификации, белки, прямо и косвенно взаимодействующие с p-53, могут определять конкретный вариант клеточных событий.

Новые участники игры

Не только гены, кодирующие протеины, являются мишенями для белка p-53. Не менее семи исследовательских групп в 2007 г. независимо друг от друга описали способность p-53 напрямую регулировать экспрессию определенных микроРНК, наиболее активно — locus *микроРНК 34*, состоящий из *микроРНК 34*, *микроРНК 35* и *микроРНК 36* [66–72]. В нескольких работах было показано, что p-53 может связываться непосредственно с зонами ответа промоутеров *miR-34a* и *miR-34b/c*, стимулируя транскрипцию. Действительно, экспрессия *miR-34a* с физиологической точки зрения аналогична влиянию молекулы p-53 на клеточные реакции: *miR-34a* может вызвать остановку клеточного цикла, преждевременное старение или апоптоз. Функциональное выключение *miR-34a* приводит к уменьшению влияния p-53-опосредованных эффектов на клетку. Что интересно, семейство *miR-34a* законсервировано у мух и червей, что нечасто наблюдается среди микроРНК. Как обычно, в случае с микроРНК наиболее трудной задачей является идентификация гена-мишени *miR-34*, репрессия которого приведет к остановке клеточного цикла или к смерти.

Среди возможных кандидатов, рассматриваемых в большинстве исследований, находятся регуляторы клеточного цикла циклин-зависимая киназа 4 (CDK4) и циклин E2, как и протоонкоген мезенхимально-эпителиальный фактор переноса (Met) и антиапоптотический фактор Bcl2. Недавно было показано, что сиртуин SIRT1 может быть мишенью для *miR-34a* и его супрессия коррелирует с активацией ацетилирования p-53 [73]. Расшифровка функции *miR-34a* как ключевой мишени для p-53 позволяет по-

ставить вопрос об активности микроРНК при различного рода пролиферативных процессах. Оказалось, что при различных опухолевых процессах концентрация *miR-34a* резко снижена [66, 67, 72].

miR-34a не является единственной мишенью белка р-53 в семействе микроРНК. Как мишени идентифицированы *miR-192* и *miR-215*, способствующие увеличению экспрессии р-21 [74]. Более того, *miR-145* обладает свойством репрессировать экспрессию *c-myc*, будучи мишенью для р-53 [75]. Как было показано, некоторые микроРНК, для которых мишенями являются антипролиферативные гены, угнетаются р-53 при обязательном участии E2F, что не характерно для других репрессируемых белком р-53 целей [76]. Интересно, что малая молекула Nutlin способна вызывать экспрессию *miR-34a* и преждевременное старение у ряда клеток, например у нормальных человеческих фибробластов [77], но в то же время Nutlin неспособна провоцировать активность *miR-34a* и экспрессию *p21* в клеточных культурах опухолей, которые скорее подвергаются апоптозу после обработки Nutlin [78]. Представляет определенный интерес раскрытие механизмов такой дифференцированной активации *miR-34a* при участии р-53.

Терапевтические аспекты молекулы р-53

Несмотря на то что многие аспекты «жизни» молекулы р-53 еще не изучены, представляется вполне реальным использование регуляторных механизмов р-53 в лечении многих заболеваний. Поскольку функция р-53 нарушена при многих пролиферативных процессах, особенно злокачественного характера, независимо от морфологического типа ткани и локализации, кажется логичным восстановление ингибиторных свойств белка р-53. Эта концепция получила наглядное подтверждение в экспериментальных моделях на животных, в которых реактивация нормально-го белка р-53 сопровождалась выраженной регрессией опухолевой массы [79–81].

Каким же образом молекула р-53 может быть реактивирована? Одно из направлений, оказавшееся успешным, — это применение генной терапии для введения р-53 в опухоль с использованием в качестве вектора аденовируса [82]. Существенно расширившееся понимание механизмов регуляции функций молекулы р-53 привело к созданию препаратов (малых молекул), способных стабилизировать и активировать протеин р-53. Недавно были идентифицированы клеточные ингибиторы сиртуина, белка, который может ограничивать диапазон активности р-53 [83].

Надо отметить, что создание подобного рода лекарств вызвало большую дискуссию об их потенциальной токсичности, обусловленной системной активацией молекулы р-53 в здоровых тканях. В экспериментальных моделях на животных отсутствие *Mdm2* в здоровых тканях, экспрессирующих р-53, сопровождалось множеством побочных эффектов [84]. Авторы высказывают мнение, что, возможно, лекарства, ингибирующие активность *Mdm2*, будут менее эффективны, но лучше переносимы в сравнении с препаратами, удаляющими этот ген. Более того, поскольку ингибиторы активности не являются генотоксичными, они смогут избежать побочных эффектов, характерных для традиционной химиотерапии, также активирующей функции молекулы р-53 в клетках. Интересно, что в некоторых исследованиях было показано, что лечение ингибиторами *Mdm2* было эффективнее, если в клетке были запущены сигнальные механизмы, возникающие при повреждении ДНК. Последнее обстоятельство отличает здоровую клетку

от злокачественной [85]. Если использование активаторов молекулы р-53 кажется перспективным при злокачественной пролиферации, следует оценить возможный побочный эффект ускоренного старения — следствие длительной системной терапии подобного рода препаратами. Восстановление функций мутантного р-53 в злокачественных опухолях — очень сложная задача, хотя описаны малые молекулы, способные реактивировать нормальные функции молекулы р-53 [86]. Такого рода подход является наиболее трудным, но он обещает избирательное воздействие на злокачественные клетки с мутантной формой р-53.

Концепция реактивации нормальных функций белка р-53 в озлокачественных клетках подтверждается экспериментальными исследованиями и рядом исследований у человека, показавшими связь между мутациями молекулы р-53 и плохим прогнозом [87]. Однако клеточный ответ на стимуляцию р-53 может широко варьировать — от смерти клетки до выживания, и предсказать это трудно. В самом деле, ингибирование функции белка р-53 при раке молочной железы защищает раковые клетки от некоторых видов химиотерапии и, таким образом, ассоциируется с плохим ответом на лечение [88]. Возможно, подобного рода эффект можно использовать в изменении тактики терапевтического подхода. Отсутствие ответа опухолевой клетки на манипуляции с молекулой р-53 предполагает сохранение чувствительности к химиотерапевтическим препаратам, воздействующим на S-фазу или G2/M-фазу клеточного цикла. Эти лекарственные препараты будут менее токсичными для нормальной клетки [89]. Продолжением этой идеи является использование препаратов, активирующих р-53, с целью защиты здоровых клеток во время химиотерапии [90, 91].

Что интересно, та же идея хемопротекции нормальных клеток предлагает использовать лекарственные препараты, ингибирующие молекулу р-53. Понятно, что большинство токсических эффектов во время химиотерапии генотоксичными препаратами обусловлено активацией р-53 и р-53-индуцированной смертью радиочувствительных клеток гематопозитической системы, эпителия кишечника и других тканей. В этом случае супрессия функций молекулы р-53 в здоровых клетках поможет защитить их от смерти и повысить толерантность больного к более высоким дозам химиопрепаратов и лучевой нагрузки [92, 93].

Исследования в моделях на мышах подтверждают эту стратегию, демонстрируя, что многие побочные эффекты генотоксичных препаратов могут быть исключены кратковременным угнетением активности белка р-53 [94].

Перспективы использования молекулы р-53 в лечении не исчерпываются только злокачественной пролиферацией. При некоторых патологических процессах ингибирование функции р-53 (или, как минимум, угнетение р-53-опосредованного апоптоза) может стать исковой терапевтической целью. Эта область анти-р-53-направленной терапии остается неисследованной, но некоторые вещества, снижающие активность молекулы р-53, были с успехом использованы в моделях ишемии и болезни Паркинсона у животных [95, 96].

Обращаясь к иммуноопосредованным заболеваниям опорно-двигательного аппарата, необходимо вспомнить тот факт, что функция молекулы р-53 при ревматоидном артрите существенно угнетена, что способствует созданию так называемого гиперпролиферативного (гиперпластического) статуса, поскольку интенсивность апоптоза синовиоцитов резко снижена [97]. Подобное состояние наблюда-

ется преимущественно на ранних стадиях развития ревматоидного артрита, что способствует его прогрессии, тогда как на поздних стадиях интенсивность апоптоза восстанавливается [98]. Вполне логично использование препаратов, способных восстановить нормальные функции молекулы p-53 в дебюте аутоиммунного поражения суставов. Может быть использована локальная (доставка в синовиальную ткань с помощью аденовирусного вектора) или системная терапия [99]. Поздние же стадии ревматоидного артрита, очевидно, нуждаются в дозированной супрессии функций белка p-53, скорее на системном уровне, поскольку преобладают не локальные изменения, а висцеральные эквиваленты заболевания.

Понятно, что по мере появления препаратов, способных восстанавливать нормальные функции у мутантных форм p-53 или включать и выключать их у обычно-

го белка p-53, будут расти наши знания о том, как и когда лучше использовать эти средства. Чем дальше мы проникаем в понимание всех тонкостей регуляции активности молекулы p-53, тем сложнее предсказать возможные эффекты от воздействия на нее. Конечно, местоположение молекулы p-53 в иерархии внутриклеточной сигнализации довольно высоко, и это обещает не только сложности в попытках управления этим белком, но и большие перспективы в получении долговременного положительного эффекта в лечении тяжелых заболеваний, в том числе ревматических. В связи с этим необходимы исследования тонкой регуляции функций молекулы p-53 при аутоиммунных заболеваниях суставов на локальном и системном уровнях, что позволит разработать патофизиологические подходы нового направления в молекулярной терапии болезней суставов.

Л И Т Е Р А Т У Р А

- Appella E., Anderson C.W. Post-translational modifications and activation of p53 by genotoxic stresses. *Eur J Biochem* 2001;268:2764–72.
- Bode A.M., Dong Z. Post-translational modification of p53 in tumorigenesis. *Nat Rev Cancer* 2004;4:793–805.
- Kruse J.P., Gu W. SnapShot: p53 posttranslational modifications. *Cell* 2008;133:930–1.
- Hofmann T.G., Moller A., Sirma H. et al. Regulation of p53 activity by its interaction with homeodomain-interacting protein kinase-2. *Nat Cell Biol* 2002;4:1–10.
- Rui Y., Xu Z., Lin S. et al. Axin stimulates p53 functions by activation of HIPK2 kinase through multimeric complex formation. *EMBO J* 2004;23:4583–94.
- Rinaldo C., Prodosmo A., Mancini F. et al. MDM2-regulated degradation of HIPK2 prevents p53Ser46 phosphorylation and DNA damage-induced apoptosis. *Mol Cell* 2007;25:739–50.
- Shmueli A., Oren M. Mdm2: p53's lifesaver? *Mol Cell* 2007;25:794–6.
- Perfettini J.L., Castedo M., Nardacci R. et al. Essential role of p53 phosphorylation by p38 MAPK in apoptosis induction by the HIV-1 envelope. *J Exp Med* 2005;201:279–89.
- Taira N., Nihira K., Yamaguchi T. et al. DYRK2 is targeted to the nucleus and controls p53 via Ser 46 phosphorylation in the apoptotic response to DNA damage. *Mol Cell* 2007;25:725–38.
- Yoshida K., Liu H., Miki Y. Protein kinase C delta regulates Ser46 phosphorylation of p53 tumor suppressor in the apoptotic response to DNA damage. *J Biol Chem* 2006;281:5734–40.
- Cecchinelli B., Porrello A., Lazzari C. et al. Ser58 of mouse p53 is the homologue of human Ser46 and is phosphorylated by HIPK2 in apoptosis. *Cell Death Differ* 2006;13:1994–7.
- Fogal V., Hsieh J.K., Royer C. et al. Cell cycle-dependent nuclear retention of p53 by E2F1 requires phosphorylation of p53 at Ser315. *EMBO J* 2005;24:2768–82.
- Qu L., Huang S., Baltzis D. et al. Endoplasmic reticulum stress induces p53 cytoplasmic localization and prevents p53-dependent apoptosis by a pathway involving glycogen synthase kinase-3beta. *Genes Dev* 2004;18:261–77.
- Ou Y.H., Chung P.H., Sun T.P. et al. p53 C-terminal phosphorylation by CHK1 and CHK2 participates in the regulation of DNA-damage-induced C-terminal acetylation. *Mol Biol Cell* 2005;16:1684–95.
- Bruins W., Jonker M.J., Bruning O. et al. Delayed expression of apoptotic and cell cycle control genes in carcinogen-exposed bladders of mice lacking p53.S389 phosphorylation. *Carcinogenesis* 2007;28:1814–23.
- Bruins W., Bruning O., Jonker M.J. et al. The absence of Ser389 phosphorylation in p53 affects the basal gene expression level of many p53-dependent genes and alters the biphasic response to UV exposure in mouse embryonic fibroblasts. *Mol Cell Biol* 2008;28:1974–87.
- Feng L., Lin T., Uranishi H. et al. Functional analysis of the roles of posttranslational modifications at the p53 C terminus in regulating p53 stability and activity. *Mol Cell Biol* 2005;25:5389–95.
- Krummel K.A., Lee C.J., Toledo F. et al. The C-terminal lysines fine-tune P53 stress responses in a mouse model but are not required for stability control or transactivation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:10188–93.
- Sykes S.M., Mellert H.S., Holbert M.A. et al. Acetylation of the p53 DNA-binding domain regulates apoptosis induction. *Mol Cell* 2006;24:841–51.
- Tang Y., Luo J., Zhang W. et al. Tip60-dependent acetylation of p53 modulates the decision between cell cycle arrest and apoptosis. *Mol Cell* 2006;24:827–39.
- Zupnick A., Prives C. Mutational analysis of the p53 core domain L1 loop. *J Biol Chem* 2006;281:20464–73.
- Tang Y., Zhao W., Chen Y. et al. Acetylation is indispensable for p53 activation. *Cell* 2008;133:612–26.
- Kitagawa M., Lee S.H., McCormick F. Skp2 suppresses p53-dependent apoptosis by inhibiting p300. *Mol Cell* 2008;29:217–31.
- Iyer N.G., Chin S.F., Ozdag H. et al. p300 regulates p53-dependent apoptosis after DNA damage in colorectal cancer cells by modulation of PUMA/p21 levels. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:7386–91.
- Knight C.D., Catania J., Di Giovanni S. et al. Distinct p53 acetylation cassettes differentially influence gene-expression patterns and cell fate. *J Cell Biol* 2006;173:533–44.
- Di Giovanni S., Knight C.D., Rao M. et al. The tumor suppressor protein p53 is required for neurite outgrowth and axon regeneration. *EMBO J* 2006;25:4084–96.
- Le Cam L., Linares L.K., Paul C. et al. E4F1 is an atypical ubiquitin ligase that modulates p53 effector functions independently of degradation. *Cell* 2006;127:775–88.
- Linares L.K., Kiernan R., Triboulet R. et al. Intrinsic ubiquitination activity of PCAF controls the stability of the oncoprotein Hdm2. *Nat Cell Biol* 2007;9:331–8.
- Chuiikov S., Kurash J.K., Wilson J.R. et al. Regulation of p53 activity through lysine methylation. *Nature* 2004;432:353–60.
- Huang J., Perez-Burgos L., Placek B.J. et al. Repression of p53 activity by Smyd2-mediated methylation. *Nature* 2006;444:629–32.
- Ivanov G.S., Ivanova T., Kurash J. et al. Methylation-acetylation interplay activates p53 in response to DNA damage. *Mol Cell Biol* 2007;27:6756–69.
- Jansson M., Durant S.T., Cho E.C. et al. Arginine methylation regulates the p53 response. *Nat Cell Biol* 2008;10:1431–9.
- Marine J.C., Francoz S., Maetens M. et al. Keeping p53 in check: essential and synergistic functions of Mdm2 and Mdm4. *Cell Death Differ* 2006;13:927–34.
- Marine J.C., Dyer M.A., Jochemsen A.G. MDMX: from bench to bedside. *J Cell Sci* 2007;120:371–8.
- Poyurovsky M.V., Prives C. Unleashing the power of p53: lessons from mice and men. *Genes Dev* 2006;20:125–31.
- Toledo F., Wahl G.M. Regulating the p53 pathway: in vitro hypotheses, in vivo veritas. *Nat Rev Cancer* 2006;6:909–23.
- Itahana K., Mao H., Jin A. et al. Targeted inactivation of Mdm2 RING finger E3 ubiquitin ligase activity in the mouse reveals mechanistic insights into p53 regulation. *Cancer Cell* 2007;12:355–66.
- Ito A., Lai C.H., Zhao X. et al. p300/CBP-mediated p53 acetylation is commonly induced by p53-activating agents and inhibited by MDM2. *EMBO J* 2001;20:1331–40.
- Teufel D.P., Freund S.M., Bycroft M. et al. Four domains of p300 each bind tightly to a sequence spanning both transactivation subdomains of p53. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:7009–14.
- Ohkubo S., Tanaka T., Taya Y. et al. Excess HDM2 impacts cell cycle and apoptosis and has a selective effect on p53-dependent transcription. *J Biol Chem* 2006;281:16943–50.
- Minsky N., Oren M. The RING domain of Mdm2 mediates histone ubiquitination and transcriptional repression. *Mol Cell* 2004;16:631–9.
- Harms K.L., Chen X. The functional domains in p53 family proteins exhibit both common and distinct properties. *Cell Death Differ* 2006;13:890–7.
- Baptiste-Okoh N., Barsotti A.M., Prives C. Caspase 2 is both required for p53-mediated apoptosis and downregulated by p53 in a p21-dependent manner. *Cell Cycle* 2008;7:1133–8.
- Jung E.J., Liu G., Zhou W. et al. Myosin

- VI is a mediator of the p53-dependent cell survival pathway. *Mol Cell Biol* 2006;26:2175–86.
45. Gamper A.M., Roeder R.G. Multivalent binding of p53 to the STA- GA complex mediates coactivator recruitment after UV damage. *Mol Cell Biol* 2008;28:2517–27.
46. Hammond E.M., Mandell D.J., Salim A. et al. Genome-wide analysis of p53 under hypoxic conditions. *Mol Cell Biol* 2006;26:3492–504.
47. Ding K., Lu Y., Nikolovska-Coleska Z. et al. Structure-based design of potent non-peptide MDM2 inhibitors. *J Am Chem Soc* 2005;127:10130–1.
48. Vassilev L.T., Vu B.T., Graves B. et al. In vivo activation of the p53 pathway by small-molecule antagonists of MDM2. *Science* 2004;303:844–8.
49. Enge M., Bao W., Hedstrom E. et al. MDM2-dependent downregulation of p21 and hnRNP K provides a switch between apoptosis and growth arrest induced by pharmacologically activated p53. *Cancer Cell* 2009;15:171–83.
50. Pietsch E.C., Humbey O., Murphy M.E. Polymorphisms in the p53 pathway. *Oncogene* 2006;25:1602–11.
51. Bergamaschi D., Samuels Y., Sullivan A. et al. iASPP preferentially binds p53 proline-rich region and modulates apoptotic function of codon 72-polymorphic p53. *Nat Genet* 2006;38:1133–41.
52. Mantovani F., Tocco F., Girardini J. et al. The prolyl isomerase Pin1 orchestrates p53 acetylation and dissociation from the apoptosis inhibitor iASPP. *Nat Struct Mol Biol* 2007;14:912–20.
53. Cuadrado A., Lafarga V., Cheung P.C. et al. A new p38 MAP kinase-regulated transcriptional co-activator that stimulates p53-dependent apoptosis. *EMBO J* 2007;26:2115–26.
54. Hudson C.D., Morris P.J., Latchman D.S. et al. Brn-3a transcription factor blocks p53-mediated activation of proapoptotic target genes Noxa and Bax in vitro and in vivo to determine cell fate. *J Biol Chem* 2005;280:11851–8.
55. Schumm K., Rocha S., Caamano J. et al. Regulation of p53 tumour suppressor target gene expression by the p52 NF-kappaB subunit. *EMBO J* 2006;25:4820–32.
56. Wei X., Xu H., Kufe D. Human MUC1 oncoprotein regulates p53-responsive gene transcription in the genotoxic stress response. *Cancer Cell* 2005;7:167–78.
57. Homer C., Knight D.A., Hananeia L. et al. Y-box factor YB1 controls p53 apoptotic function. *Oncogene* 2005;24:8314–25.
58. Enari M., Ohmori K., Kitabayashi I. et al. Requirement of clathrin heavy chain for p53-mediated transcription. *Genes Dev* 2006;20:1087–99.
59. Iizuka M., Sarmiento O.F., Sekiya T. et al. Hbo1 Links p53-dependent stress signaling to DNA replication licensing. *Mol Cell Biol* 2008;28:140–53.
60. Imbriano C., Gurtner A., Cocchiarella F. et al. Direct p53 transcriptional repression: in vivo analysis of CCAAT-containing G2/M promoters. *Mol Cell Biol* 2005;25:3737–51.
61. Mouten A., Masterson P., O'Connor M.J. et al. hnRNP K: an HDM2 target and transcriptional coactivator of p53 in response to DNA damage. *Cell* 2005;123:1065–78.
62. Zhu Q., Wani G., Yao J. et al. The ubiquitin-proteasome system regulates p53-mediated transcription at p21waf1 promoter. *Oncogene* 2007;26:4199–208.
63. Zhou Y., Zhong Y., Wang Y. et al. Activation of p53 by MEG3 non-coding RNA. *J Biol Chem* 2007;282:24731–42.
64. Weber A., Marquardt J., Elzi D. et al. Zbtb4 represses transcription of P21CIP1 and controls the cellular response to p53 activation. *EMBO J* 2008;27:1563–74.
65. Wu W.S., Heinrichs S., Xu D. et al. Slug antagonizes p53-mediated apoptosis of hematopoietic progenitors by repressing puma. *Cell* 2005;123:641–53.
66. Bommer G.T., Gerin I., Feng Y. et al. p53-mediated activation of miRNA34 candidate tumor-suppressor genes. *Curr Biol* 2007;17:1298–307.
67. Chang T.C., Wentzel E.A., Kent O.A. et al. Transactivation of miR-34a by p53 broadly influences gene expression and promotes apoptosis. *Mol Cell* 2007;26:745–52.
68. Corney D.C., Flesken-Nikitin A., Godwin K.A. et al. MicroRNA-34b and MicroRNA-34c are targets of p53 and cooperate in control of cell proliferation and adhesion-independent growth. *Cancer Res* 2007;67:8433–8.
69. He L., He X., Lim L.P. et al. A microRNA component of the p53 tumour suppressor network. *Nature* 2007;447:1130–4.
70. Raver-Shapira N., Marciano E., Meiri E. et al. Transcriptional activation of miR-34a contributes to p53-mediated apoptosis. *Mol Cell* 2007;26:731–43.
71. Tarasov V., Jung P., Verdoodt B. et al. Differential regulation of microRNAs by p53 revealed by massively parallel sequencing: miR-34a is a p53 target that induces apoptosis and G1-arrest. *Cell Cycle* 2007;6:1586–93.
72. Tazawa H., Tsuchiya N., Izumiya M. et al. Tumor-suppressive miR-34a induces senescence-like growth arrest through modulation of the E2F pathway in human colon cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:15472–7.
73. Yamakuchi M., Ferlito M., Lowenstein C.J. miR-34a repression of SIRT1 regulates apoptosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105:13421–6.
74. Braun C.J., Zhang X., Savelyeva I. et al. p53-Responsive microRNAs 192 and 215 are capable of inducing cell cycle arrest. *Cancer Res* 2008;68:10094–104.
75. Sachdeva M., Zhu S., Wu F. et al. p53 represses c-Myc through induction of the tumor suppressor miR-145. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106:3207–12.
76. Brosh R., Shalgi R., Liran A. et al. p53-Repressed miRNAs are involved with E2F in a feed-forward loop promoting proliferation. *Mol Syst Biol* 2008;4:229.
77. Kumamoto K., Spillare E.A., Fujita K. et al. Nutlin-3a activates p53 to both down-regulate inhibitor of growth 2 and up-regulate mir-34a, mir-34b, and mir-34c expression, and induce senescence. *Cancer Res* 2008;68:3193–203.
78. Paris R., Henry R.E., Stephens S.J. et al. Multiple p53-independent gene silencing mechanisms define the cellular response to p53 activation. *Cell Cycle* 2008;7:2427–33.
79. Martins C.P., Brown-Swigart L., Evan G.I. Modeling the therapeutic efficacy of p53 restoration in tumors. *Cell* 2006;127:1323–34.
80. Ventura A., Kirsch D.G., McLaughlin M.E. et al. Restoration of p53 function leads to tumour regression in vivo. *Nature* 2007;445:661–5.
81. Xue W., Zender L., Miething C. et al. Senescence and tumour clearance is triggered by p53 restoration in murine liver carcinomas. *Nature* 2007;445:656–60.
82. Senzer N., Nemunaitis J. A review of conatusgene ladenovec (Advexin) p53 therapy. *Curr Opin Mol Ther* 2009;11:54–61.
83. Lain S., Hollick J.J., Campbell J. et al. Discovery, in vivo activity, and mechanism of action of a small-molecule p53 activator. *Cancer Cell* 2008;13:454–63.
84. Ringshausen I., O'Shea C.C., Finch A.J. et al. Mdm2 is critically and continuously required to suppress lethal p53 activity in vivo. *Cancer Cell* 2006;10:501–14.
85. Brummelkamp T.R., Fabius A.W., Mullenders J. et al. An shRNA barcode screen provides insight into cancer cell vulnerability to MDM2 inhibitors. *Nat Chem Biol* 2006;2:202–6.
86. Selivanova G., Wiman K.G. Reactivation of mutant p53: molecular mechanisms and therapeutic potential. *Oncogene* 2007;26:2243–54.
87. Petitjean A., Achatz M.I., Borresen-Dale A.L. et al. TP53 mutations in human cancers: functional selection and impact on cancer prognosis and outcomes. *Oncogene* 2007;26:2157–65.
88. Bertheau P., Espie M., Turpin E. et al. TP53 status and response to chemotherapy in breast cancer. *Pathobiology* 2008;75:132–9.
89. Sur S., Pagliarini R., Bunz F. et al. A panel of isogenic human cancer cells suggests a therapeutic approach for cancers with inactivated p53. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106:3964–9.
90. Carvajal D., Tovar C., Yang H. et al. Activation of p53 by MDM2 antagonists can protect proliferating cells from mitotic inhibitors. *Cancer Res* 2005;65:1918–24.
91. Kranz D., Dobbelsstein M. Nongenotoxic p53 activation protects cells against S-phase-specific chemotherapy. *Cancer Res* 2006;66:10274–80.
92. Gudkov A.V., Komarova E.A. Prospective therapeutic applications of p53 inhibitors. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;331:726–36.
93. Strom E., Sathe S., Komarov P.G. et al. Small-molecule inhibitor of p53 binding to mitochondria protects mice from gamma radiation. *Nat Chem Biol* 2006;2:474–9.
94. Christophorou M.A., Ringshausen I., Finch A.J. et al. The pathological p53-mediated response to DNA damage is distinct from p53-mediated tumour suppression. *Nature* 2006;14:214–7.
95. Duan W., Zhu X., Ladenheim B. et al. p53 inhibitors preserve dopamine neurons and motor function in experimental parkinsonism. *Ann Neurol* 2002;52:597–606.
96. Leker R.R., Aharonowicz M., Greig N.H. et al. The role of p53-induced apoptosis in cerebral ischemia: effects of the p53 inhibitor pifithrin alpha. *Exp Neurol* 2004;187:478–86.
97. Leech M., Xue J.R., Dacumos A. et al. The tumour suppressor gene p53 modulates the severity of antigen-induced arthritis and the systemic immune response. *Clin Exp Immun* 2008;152:345–53.
98. Дубиков А.И. Ревматоидный артрит, апоптоз, оксид азота: новые аспекты патогенеза. Владивосток: Изд-во Дальневост. ун-та, 2004;132 с.
99. Yao Q., Wang S., Glorioso J.C. et al. Gene transfer of p53 to arthritic joints stimulates synovial apoptosis and inhibits inflammation. *Mol Ther* 2001;3:901–10.
100. An W., Kim J., Roeder R.G. Ordered cooperative functions of PRMT1, p300, and CARM1 in transcriptional activation by p53. *Cell* 2004;117:735–48.
101. Zhang X., Krutchinsky A., Fukuda A. et al. MED1/TRAP220 exists predominantly in a TRAP/ Mediator subpopulation enriched in RNA polymerase II and is required for ER-mediated transcription. *Mol Cell* 2005;19:89–100.

Поступила 24.11.09