

*У.В. Волченкова, В.В. Дембский*

**МОДУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ БЕЛКОВ-ИНГИБИТОРОВ АПОПТОЗА  
КАК СПОСОБ ПРЕОДОЛЕНИЯ МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ  
УСТОЙЧИВОСТИ РАКОВЫХ КЛЕТОК**

*Научный руководитель: канд. биол. наук, доц. Т.Ю. Принькова*

*Кафедра биологической химии*

*Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск*

*U.V. Volchenkova, V.V. Dembski*

**MODULATION OF THE EXPRESSION OF APOPTOSIS INHIBITOR PROTEINS  
AS A WAY TO OVERCOME THE MULTIDRUG RESISTANCE  
OF CANCER CELLS**

*Tutor: associate professor T.U. Prinkova*

*Department of Biological Chemistry*

*Belarusian State Medical University, Minsk*

**Резюме.** С использованием различных биоинформатических платформ и программ была изучена множественная лекарственная устойчивость (МЛУ) раковых клеток, а также механизмы ее формирования. Рассмотрен белок сурвивин и его белки-регуляторы, в частности гистоновая деацетилаза HDAC1. Подобраны потенциальные молекулы-ингибиторы белка HDAC1.

**Ключевые слова:** апоптоз, множественная лекарственная устойчивость (МЛУ), рак, сурвивин, гистоновые деацетилазы, HDAC1.

**Resume.** Using various bioinformatic platforms and programs, the multidrug resistance (MDR) of cancer cells, as well as the mechanisms of its formation, were studied. Survivin protein and its regulatory proteins, in particular histone deacetylase HDAC1, were considered. Potential HDAC1 protein inhibitor molecules have been selected.

**Keywords:** apoptosis, multidrug resistance (MDR), cancer, survivin, histone deacetylases, HDAC1.

**Актуальность.** Ежегодно онкологические заболевания становятся причиной около 10 млн летальных исходов, являясь одной из ведущих причин смерти в мире [7]. В настоящее время в медицинской практике для лечения пациентов онкологического профиля применяются различные хирургические вмешательства, гормональная и генная терапия, иммуно-, радио- и лазеротерапия, а также комбинированные подходы. Однако химиотерапия остается самым популярным и перспективным терапевтическим методом. Несмотря на прорывы в области противораковой терапии, классические и современные препараты для лечения онкологических пациентов в ряде случаев оказываются неэффективными или же малоэффективными из-за приобретения клетками злокачественных опухолей множественной лекарственной устойчивости (МЛУ), что приводит к рецидиву опухолей и летальному исходу [10]. Лекарственная устойчивость раковых клеток была отмечена практически ко всем группам химиопрепаратов, используемых при лечении наиболее агрессивных онкологических заболеваний [9]. В частности, сложности, связанные с МЛУ, часто встречаются при лечении пациентов с раком молочной железы, легких, предстательной железы, а также с колоректальным раком [4, 7]. Одним из факторов, обеспечивающих МЛУ, является нару-

шение регуляции апоптоза. Повышенная устойчивость к апоптозу, приобретаемая раковыми клетками, представляет особую важность, поскольку в большинстве случаев главной целью терапии онкологических заболеваний является индукция клеточной гибели посредством апоптоза [5, 8]. Среди белков, задействованных в реализации данного механизма, – белки внутреннего пути запуска апоптоза, включая суперсемейства белков Bcl-2 и белки-ингибиторы апоптоза (Inhibitors of Apoptosis, IAPs), а также регуляторы их экспрессии и функциональной активности (рис. 1).

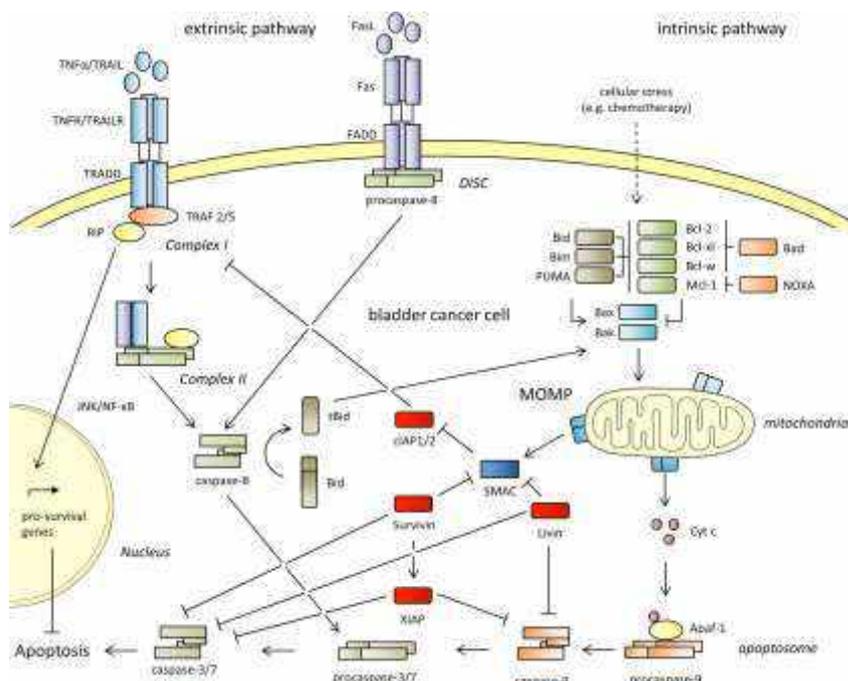


Рис. 1 – Схема механизмов запуска апоптоза

Учитывая негативное влияние МЛУ на исход лечения пациентов с онкологическими заболеваниями и преимущества разработки и применения методов, позволяющих преодолеть МЛУ, актуальным является изучение механизмов, лежащих в основе МЛУ, и новых способов подавления этой способности раковых клеток.

**Цель:** изучить апоптоз и роль нарушения его регуляции в развитии МЛУ у раковых клеток, найти потенциальные мишени и сформировать стратегии ингибирования избегания апоптоза для преодоления МЛУ.

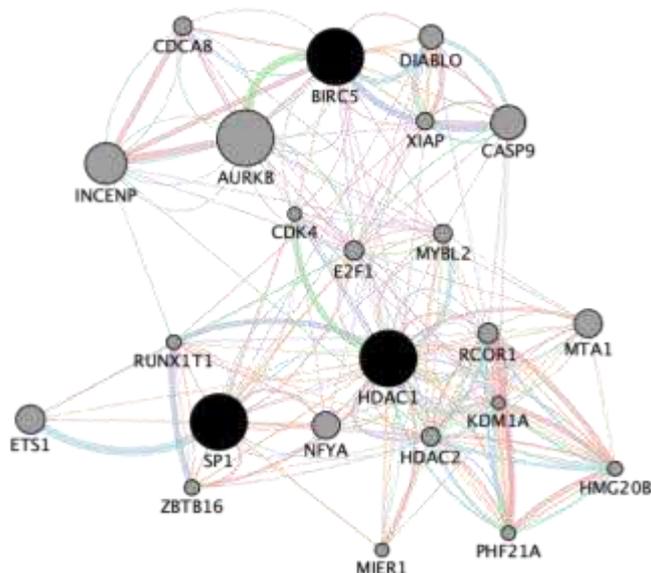
**Задачи:**

1. Собрать данные о механизмах и путях активации апоптоза; обосновать роль нарушения регуляции апоптоза в формировании МЛУ.
2. Исследовать белки-маркеры МЛУ, а также их регуляторы; подобрать цели для таргетной терапии.
3. Подобрать молекулы-ингибиторы, способствующие преодолению МЛУ; предложить стратегию применения полученных молекул.

**Материалы и методы.** Для сбора информации использовались: данные научных исследований множественной лекарственной устойчивости, базы данных ChEMBL, PDB и NCBI, научные статьи на соответствующую тематику. Визуализа-

ция взаимодействия белков и их регуляторов получена с использованием биоинформатической платформы Cytoscape с расширением GeneMania, а также онлайн-версии GeneMania. Молекулярный докинг проводился в программах AutoDoc Vina, DeepSite, Kdeerp, PlexDoc, AceDock. Моделирование структуры молекул-лигандов производилось алгоритмом Rocket2Mol, использующим графические нейронные сети. Также был использован генератор химических графов Surge.

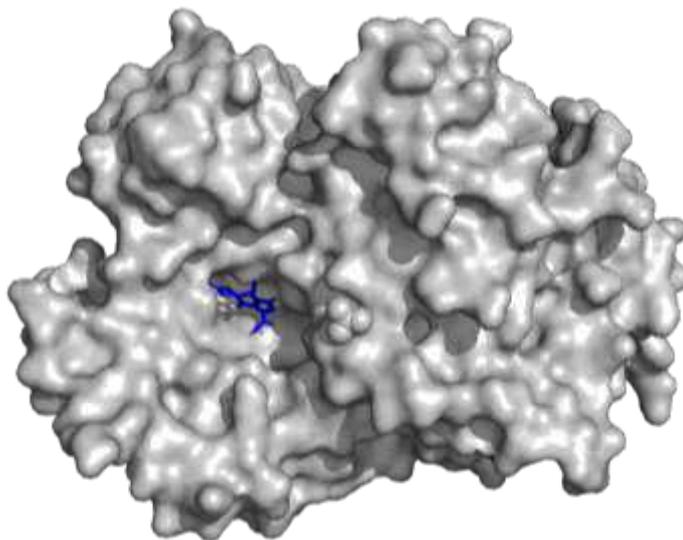
**Результаты и их обсуждение.** В ходе изучения научных статей, посвященных проблеме МЛУ у раковых клеток, было обнаружено, что повышенная экспрессия белков суперсемейства IAPs наиболее часто коррелирует с резистентностью к химиотерапии [6]. Это связано с тем, что IAPs способны связывать и ингибировать каспазы, «выключая» внутренний и внешний пути активации апоптоза. В частности, к данному суперсемейству относятся такие белки, как сурвивин (Survivin), XIAP, c-IAP1, c-IAP2, BRUCE/Apollon, NAIP, ILP-2 и Livin. В качестве цели для разрабатываемого препарата был выбран сурвивин, так как, согласно данным научных исследований, его повышенная экспрессия в раковых клетках не только запускает пути избегания апоптоза, но и обеспечивает активацию путей «выживания» клетки [6]. Кроме того, лабораторные и клинические испытания находящихся в разработке веществ, препятствующих функционированию сурвивина, оказались довольно успешны, хотя имеющиеся стратегии не лишены определенных недостатков [1, 2, 3]. Среди белков-регуляторов синтеза сурвивина была выбрана гистоновая деацетилаза 1 (HDAC1), так как замечено, что ингибиторы различных классов HDAC нормализуют профиль ацетилирования гистонов, проявляют выраженный противораковый и антипролиферативный эффект, снижая экспрессию IAPs (рис. 2).



**Рис. 2** – Визуализация взаимодействий сурвивина и некоторых его регуляторов (Cytoscape)

При помощи веб-приложения DeepSite были найдены сайты связывания потенциальных ингибиторов с HDAC1, на основании чего с использованием алгоритма Rocket2Mol были сгенерированы молекулы, способные связываться с HDAC1 в пред-

сказанном участке и ингибировать его активность. Далее был проведен молекулярный докинг для молекулы белка HDAC1 и потенциальных молекул-ингибиторов с целью выявления потенциального препарата, обладающего наибольшей аффинностью (Docking Score) к целевому белку. Таким образом, была выбрана молекула пиримидина с молекулярной формулой  $C_{23}H_{28}N_4O_4$  (рис. 3).



**Рис. 3** – Визуализация взаимодействия HDAC1 и потенциального ингибитора  $C_{23}H_{28}N_4O_4$

Таким образом, полученное потенциальное лекарственное вещество в перспективе можно использовать в качестве вспомогательного средства (элемент комбинированной химиотерапии злокачественных опухолей). Препарат потенциально способен снизить вероятность развития МЛУ и, следовательно, повысить эффективность химиотерапии. В качестве наиболее эффективного способа доставки вещества в раковые клетки перспективным кажется использование липосом, поскольку это позволит повысить специфичность действия лекарственного средства, а также предотвратит его структурные изменения при контакте с другими веществами.

#### **Выводы:**

1. Нарушение регуляции апоптоза является одним из центральных механизмов формирования МЛУ у раковых клеток.
2. Сурвивин, а также регуляторы его экспрессии (в частности, HDAC1), – перспективные цели для разработки таргетной терапии МЛУ.
3. На основании этого с помощью методов биоинформатики были подобраны молекулы, ингибирующие HDAC1 и способствующие подавлению экспрессии сурвивина, приводя к индукции апоптоза в раковых клетках с МЛУ.

#### **Литература**

1. Arnt, C. The saintly side of Smac/DIABLO: giving anticancer drug-induced apoptosis a boost / C. Arnt, S. Kaufmann // *Cell Death Differ.* – 2003. – Vol. 10. – P. 1118-1120.
2. Choi, E. A248, a novel synthetic HDAC inhibitor, induces apoptosis through the inhibition of specificity protein 1 and its downstream proteins in human prostate cancer cells / E. S. Choi, H. Gyoonhee, H. Song-Kyu // *Molecular Medicine Reports.* – 2013. – Vol. 8. – P. 195-200.

3. Liston, P. The inhibitors of apoptosis: there is more to life than Bcl2 / P. Liston, W. G. Fong, R. G. Korneluk // *Oncogene*. – 2003. – Vol. 22, № 53. – P. 85-100.
4. Mansoori, B. The Different Mechanisms of Cancer Drug Resistance: A Brief Review / B. Mansoori, A. Mohammadi, S. Davudian // *Advanced Pharmaceutical Bulletin* – 2017. – Vol. 7, № 3. – P. 339-348.
5. Murray, N. Taxane resistance in breast cancer: mechanisms, predictive biomarkers and circumvention strategies / S. Murray, E. Briasoulis, H. Linardou // *Cancer Treat Rev*. – 2012. – Vol. 38, № 7. – P. 890-903.
6. Neophytou, C. Apoptosis Deregulation and the Development of Cancer Multi-Drug Resistance / C. M. Neophytou, I.P. Trougakos, N. Erin // *Cancers*. – 2021. – Vol. 13, № 17. – P. 288-301.
7. Ramos, A. Battling Chemoresistance in Cancer: Root Causes and Strategies to Uproot Them / A. Ramos, S. Sadeghi, H. Tabatabaeian // *Int J Mol Sci*. – 2021. – Vol. 22, № 17. – P. 168-182.
8. Sládek, N. Cellular levels of aldehyde dehydrogenases (ALDH1A1 and ALDH3A1) as predictors of therapeutic responses to cyclophosphamide-based chemotherapy of breast cancer: a retrospective study. Rational individualization of oxazaphosphorine-based cancer chemotherapeutic regimens / N. Sládek, R. Kollander, L. Sreerama // *Cancer Chemother Pharmacol*. – 2002. – Vol. 49, № 4. – P. 309-321.
9. Wang, X. Cisplatin resistance in gastric cancer cells is involved with GPR30-mediated epithelial-mesenchymal transition / X. Wang, Z. Xu, J. Sun, // *J Cell Mol Med*. – 2020. – Vol. 24, № 6. – P. 3625-3633.
10. Wang, X. Drug resistance and combating drug resistance in cancer / X. Wang, H. Zhan, X. Chen // *Cancer Drug Resist*. – 2019. – Vol. 2, № 2. – P. 141-160.