

РОЛЬ ИНТЕГРИРОВАННОГО ОТВЕТА ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК НА СТРЕСС, АУТОФАГИИ И ШАПЕРОНОВ В ВОЗНИКНОВЕНИИ РЕЦИДИВОВ РЕЗИСТЕНТНЫХ ОПУХОЛЕЙ

© 2023 г. С. Г. Зубова¹, *, О. О. Гнедина¹

¹Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: egretta_julia@mail.ru

Поступила в редакцию 07.11.2022 г.

После доработки 27.01.2023 г.

Принята к публикации 01.02.2023 г.

Химио- и радиотерапия представляют собой для опухолевых клеток колоссальный стрессорный фактор. В ответ на терапию активируется вся эволюционно закрепленная реакция клеток на стресс. Это происходит на всех уровнях организации клетки, а именно на белковом уровне и уровне ДНК. В этот ответ включаются система протеостаза клетки, системы репарации ДНК, гены-онкосупрессоры и многие другие системы клетки. Мы рассмотрим роль в этих процессах основных систем протеостаза, а именно макроаутофагии и шаперонов, которые являются частью интегрированного ответа клетки на стресс. В результате ответа клетки на стресс, опухолевая клетка становится еще менее дифференцированной, активируя необходимые для выживания гены и внутриклеточные системы. Клетки, которые ответили на стресс таким образом, имеют более агрессивный фенотип, который оказывается значительно устойчивее к терапии. Под воздействием стресса клетка эволюционно упрощается, что дает ей дополнительные шансы для выживания. Аутофагия, с одной стороны, способствует снижению дифференцировки опухолевой клетки, ее пластичности, а с другой — поддерживает определенную стабильность, отвечая за целостность генома и освобождая клетку от поврежденных органелл и дефектных белков. И аутофагия, и шапероны способствуют приобретению опухолью множественной лекарственной устойчивости, что еще более затрудняет терапию. Понимание этих процессов с учетом многостадийности канцерогенеза делает возможной разработку новых терапевтических подходов.

Ключевые слова: аутофагия, шапероны, ДНК стабильность, МЛУ фенотип, старение, апоптоз, стволовой компонент

DOI: 10.31857/S0041377123030100, **EDN:** VDVWZ

В основе интегрированного ответа клетки на стресс лежит внутриклеточная сигнальная сеть, которая активируется при действии различных факторов стресса и является эволюционно консервативной (Tian et al., 2021). Интегрированный ответ клетки на стресс, в частности на действие цитостатиков, мобилизует адаптивные внутриклеточные механизмы, за счет которых раковая клетка приобретает более злокачественный фенотип гораздо быстрее, чем это позволили бы сделать случайные мутации. Именно эволюционная консервативность интегрированного ответа позволяет клетке активировать более эволюционно древние гены, которые обеспечивают ее выживание.

Клетки опухоли, которые пережили стресс и стали более автономными, дают начало рецидивирующему росту опухоли. В первую очередь, конечно, под воздействием стресса в клетках активируется стволовой компонент, а также активируются гены, которые обеспечивают неограниченную пролиферацию и рост, независимый от микроокружения. Пла-

стичность опухолевых клеток после действия цитостатиков и их устойчивость являются серьезной проблемой для терапии. Система протеостаза активируется в ответ на фактически любой тип стресса и отвечает за гомеостаз белков; она регулирует их синтез и деградацию и обеспечивает необходимый баланс, отвечающий за оптимальное функциональное состояние белков. Система протеостаза включает шапероны, аутофагию и убиквитин-протеосомную систему деградации белка (Margulis et al., 2020).

В последнее время в литературе появляются отрывочные данные, свидетельствующие о том, что аутофагия и шапероны участвуют в обеспечении множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) опухолевых клеток, а также играют роль в поддержании целостности и стабильности ДНК.

Цель настоящего обзора — показать роль интегрированного ответа опухолевой клетки на стресс в опухолевой прогрессии и рецидивах, а также показать роль аутофагии и шаперонов в этих процессах,

как участников ответа на стресс, который вызывает, в частности, терапия. Нам кажется важным оценить значение аутофагии и шаперонов для стабильности ДНК и МЛУ, поскольку эти параметры опухолевых клеток могут определять опухолевую прогрессию и злокачественность, а также последующие рецидивы.

ШАПЕРОНЫ И АУТОФАГИЯ

Аутофагия — это эволюционно консервативный катаболический процесс, который поддерживает гомеостаз клетки, утилизируя долгоживущие белки и поврежденные органеллы. В настоящее время описаны три типа аутофагии: микроаутофагия, макроаутофагия, и опосредованная шаперонами аутофагия. Микроаутофагия имеет место, когда фрагменты клеточных мембран и макромолекул просто захватываются лизосомой. При аутофагии, опосредованной шаперонами, происходит направленный транспорт частично денатурированных белков из цитоплазмы непосредственно в лизосому (Margulis et al., 2020). Макроаутофагия является более сложным процессом, чем микроаутофагия, и ей мы уделили практически все внимание, поскольку именно она участвует в тех молекулярных событиях, которые мы описываем в обзоре.

Макроаутофагия — это такой процесс, при котором дефектные белки и органеллы окружаются двойной мембраной, и образуемая таким образом аутофагосома в дальнейшем сливается с лизосомой. Содержимое аутофагосомы переваривается за счет лизосомальных ферментов, а образующиеся в результате аминокислоты используются в качестве материалов для поддержания жизнедеятельности и энергетики клетки (Mizushima, 2007). Аутофагия является механизмом выживания, поскольку утилизирует органеллы, дефектные белки и участки цитоплазмы и подвергает их переработке. В то же время, аутофагия является формой гибели клетки, когда ее процесс не ограничен, и разрушению подвергаются необходимые для жизни клеточные элементы.

Процессы аутофагии контролируются генами семейства *Atg* (autophagy-related gene) (Kametaka et al., 1998). Эти гены обеспечивают инициацию аутофагии, образование и созревание аутофагосом. Можно предположить, что в одноклеточном организме аутофагия отвечает за синтез и деградацию белков, а также регулирует численность органелл, например, таких, как митохондрии. Недаром митохондрии считаются симбиотическим организмом (Mehta et al., 2018). Когда появились многоклеточные организмы, функции генов семейства *Atg* расширились, теперь они осуществляют надзор за генетической стабильностью многоклеточного организма и поддерживают ткани в функциональном состоянии, то есть отвечают за тканевой гомеостаз.

Недавно было показано, что эти функции включают в себя участие в DDR-ответе (DNA damage re-

sponse). Аутофагия оказывает положительный эффект на гомологичную рекомбинацию, играет позитивную роль в таких репарационных процессах, как эксцизионная репарация и репарация ошибочно спаренных нуклеотидов (mismatch). При участии аутофагии деградируют такие протеины, как KAP1 (Kruppel associated box domain-associated protein 1), HP1 (heterochromatin protein 1) и SQSTM1/p62. Модуляция HP1 изменяет структуру хроматина таким образом, что становится возможной репарация двухцепочечных разрывов (Gomes et al., 2017). Таким образом, у многоклеточных организмов поддерживается стабильность ДНК, что предохраняет ткани от новообразований.

Шапероны принадлежат к семействам белков теплового шока (Hsp100, Hsp90, Hsp70 и Hsp27). Эти белки активируются в ответ на лекарственные препараты, радиацию и другие стресс-факторы. Они поддерживают баланс белков в клетке, способствуют выживанию клетки, участвуя в адаптивных реакциях. Шапероны поддерживают гомеостаз и предотвращают токсичность неправильно сложенных и денатурированных белков. Это особенно важно для опухолевых клеток, которые избыточно экспрессируют белки теплового шока и выживают даже при наличии высоких уровней белков с неправильной укладкой (Sannino et al., 2021). Шапероны нековалентно присоединяются к белкам и восстанавливают их третичную или четвертичную структуру. Шапероны отвечают также за образование и диссоциацию белковых комплексов. Шапероны предоставляют опухоли селективные преимущества, подавляя апоптозные пути, некроз, помогая преодолеть старение, промотируя ангиогенез и стимулируя метастазирование. Таким образом, шапероны способствуют прогрессии опухолей. Шапероны предохраняют клетки от аноксии и обеспечивают жизнеспособность клеток, утративших контакт с экстраклеточным матриксом. Таким способом, шапероны способствуют метастазированию (Albakova et al., 2020).

Белки теплового шока (Hsp) обеспечивают репарацию ДНК и стабильность генома. Известно, что Hsp быстро активируются в ответ на повреждающие ДНК агенты. Они обнаруживаются в фокусах репарации ДНК и активируются фосфорилированием такими факторами и стражами генома, как ATM, ATR и ДНК-зависимая протеинкиназа (ДНК-ПК) (Dubrez et al., 2020). Делеция транскрипционного фактора 1 теплового шока (*HSP1*), который контролирует экспрессию белков теплового шока, существенно повреждает способность фибробластов крысы репарировать DSB (Dubrez et al., 2020). Белки теплового шока ассоциированы с протеинами, вовлеченными в DDR-сигнальный путь (Sottile, Nadin, 2018).

Применение терапевтических воздействий — цитостатиков и облучения — служит стресс-фактором для опухолевых клеток. Несомненно, стрессовое

действие на опухолевые клетки оказывают и гипоксия, и закисление окружающей среды, и активность иммунной системы. Но мы в данном обзоре ограничимся рассмотрением влияния на опухоль цитостатиков и облучения, поскольку описание именно их действия на химиорезистентность и стабильность ДНК входит в задачи обзора. За счет своих цитопротективных свойств аутофагия и белки теплового шока способствуют устойчивости опухолевых клеток к проводимой терапии. (Das et al., 2018a).

На основании последних данных из литературы можно предположить, что подавление реакции клеток на стресс, а именно супрессия активности аутофагии и шаперонов увеличит чувствительность к цитостатикам, радиотерапии, увеличит апоптоз опухолевых клеток, приведет к генетической нестабильности опухолей, а также гибели старых клеток и поврежденных опухолевых клеток. Аутофагия рассматривается как двуликий Янус в процессах выживания и гибели клеток, но все больше данных свидетельствует о том, что при стрессовой ситуации, вызванной терапией опухолей, аутофагия действует как механизм выживания опухолевых клеток (Das et al., 2018a).

ИНТЕГРИРОВАННЫЙ ОТВЕТ КЛЕТКИ НА СТРЕСС

Фактически все виды стресса приводят к активации четырех специфических сенсорных киназ (PERK, HRI, GCN2 и PKR). Эти киназы отвечают на такие внешние стрессы как, например, истощение аминокислот, вирусная инфекция, недостаток глюкозы, гипоксия, окислительный стресс и повреждение ДНК. Активация каждой из этих четырех киназ от любого вида стресса приводит к фосфорилированию фактора eIF2a, что вызывает глобальное ингибирование синтеза белка и избирательную трансляцию мРНК активирующего транскрипционного фактора 4 (ATF4).

ATF4 связывается с такими ДНК мишенями, которые контролируют клеточное выживание, адаптацию и апоптоз (Tian et al., 2021). ATF4 — это своеобразное “бутылочное горлышко”, через которое проходят все сигнальные пути, активируемые стрессом. В частности, мишенями ATF4 являются шапероны и гены аутофагии. Аутофагия может активироваться одновременно с другими клеточными реакциями на стресс, например, с шаперонами, АА-транспортёрами, метаболическими ферментами и способствовать выживанию клетки. В настоящее время обсуждается ключевая роль аутофагии в индукции плюрипотентности и активации стволового компонента в опухолях. Можно предположить, что для репрограммирования и перехода к плюрипотентности требуется активация другой программы в клетке, смена белкового содержания, экспрессия другого набора генов и рецепторов, а также включение другого типа метаболизма. Как катаболический процесс, аутофагия может участвовать в решении этой задачи.

Активация аутофагии сопровождается сменой рецепторов фокальной адгезии, индукцией эпителиально-мезенхимного перехода, секрецией цитокинов, ответственных за миграцию, увеличением стволовости и устойчивости к лекарствам. Аутофагия способствует плюрипотентности, в раковых стволовых клетках повышает экспрессию маркеров стволовых клеток, например, CD44, а также экспрессию мезенхимных маркеров, например, виментина. Аутофагия индуцирует плюрипотентность с помощью фактора плюрипотентности SOX2, подавляющего экспрессию mTOR, что еще больше усиливает аутофагию, которая необходима для перепрограммирования (Smith et al., 2019). Таким образом, ситуация напоминает змею, кусающую хвост.

При ответе на стресс клетка как бы балансирует между старением и проявлением стволовых свойств. На клетках карциномы печени было показано, что обе эти программы могут активироваться одновременно. Несмотря на то, что доксорубин является ДНК-повреждающим агентом, вызывающим старение, было установлено, что обработка доксорубином вызывает старение в клетках карциномы печени, но это старение сопровождается значительным увеличением экспрессии генов репрограммирования *SOX2*, *KLF4* и *c-myc*, а также генов, связанных со стволовой структурой печени *EpCAM*, *CK19* и *ANXA3* (Karabıciçi et al., 2021).

Подобные результаты получены на клетках остеосаркомы (Tian et al., 2019). Было установлено, что доксорубин может увеличивать миграцию и стволовость клеток остеосаркомы и быть причиной рецидива и лекарственной устойчивости. Он повышает экспрессию фактора KLF4 в клетках остеосаркомы, чем увеличивает их стволовые свойства (Tian et al., 2019). Все больше данных свидетельствует о том, что интегрированная реакция на стресс управляет пластичностью рака. В пользу этого говорят результаты, доказывающие, что ингибиторы mTOR и химиотерапевтические препараты индуцируют трансляционную активацию подмножества изоформ мРНК NANJG, SNAIL и NODAL, что приводит к возникновению фенотипов, подобным стволовым клеткам. Такие же процессы происходят при гипоксии. Эти эффекты преодолеваются с помощью лекарств, препятствующих трансляционному перепрограммированию, которое запускается фосфорилированием фактора eIF2a, отвечающего за активацию интегрированного ответа на стресс (Jewer et al., 2020).

Химиопрепараты, в частности доксорубин, вызывая гибель раковых клеток, усиливают стволовость, инвазивность и лекарственную устойчивость оставшихся опухолевых клеток (Liu et al., 2019). В клетках, переживших стресс, стволовой компонент может активироваться за счет активации гена *Nanog*, клетка становится более плюрипотентной и менее дифференцированной (Jewer et al., 2020). В этом случае можно говорить о некотором эволюционном

упрощении таких клеток. У примитивных форм, например, у гидр, клетки выполняют несколько физиологических функций, являясь одновременно и стволовыми. Они осуществляют процесс самообновления, сохраняя определенную дифференцировку (Chakraborty, Agoramoorthy, 2012). Поэтому активация стволового компонента в опухолевых клетках может считаться примером эволюционного регресса, возвращением к эволюционно более примитивной форме. Можно утверждать, что опухолевая клетка находится в перманентном стрессе, что соответствует теории, согласно которой опухолевая клетка вообще представляет собой атавистическую эволюционно примитивную форму (Egenpreisa et al., 2022). С точки зрения эволюции, в опухолях активируются наиболее древние транскрипционные программы (Trigos et al., 2017).

Мы предполагаем, что эволюционный консерватизм интегрированного ответа на стресс и обеспечивает опухолевую прогрессию, увеличение ее злокачественного потенциала и приобретение лекарственной устойчивости. Клетки, сумевшие выжить в условиях стресса, служат источником для рецидивирующего роста. Пластичность клетки, возникновение плюрипотентности обеспечивает аутофагия, в частности митофагия, то есть удаление поврежденных митохондрий, которые продуцируют свободные радикалы. Известно, что низкая митохондриальная активность и недостаточно развитая митохондриальная сеть являются отличительными признаками стволовости (Menendez et al., 2011). Считается, что митохондрии в плюрипотентных клетках возвращаются к незрелому состоянию, в котором они пребывают в эмбриональных стволовых клетках. Если аутофагию подавить, образуются гигантские аномальные митохондрии, и клетка стареет.

Несомненно, старение также является своеобразным ответом на стресс, и активация процесса старения в опухолевых клетках является предпочтительной целью терапии. Как уже говорилось выше, в условиях стресса клетка балансирует между старением и плюрипотентностью, и этот баланс во многом определяет ингибитор аутофагии белковый комплекс mTORC1 (Menendez et al., 2011). Переход к плюрипотентности сопровождается катастрофической перестройкой метаболизма опухолевой клетки. Утрата митохондрий приводит к еще более активному гликолизу; согласно теории Варбурга, опухолевые клетки существуют преимущественно за счет гликолиза. Можно утверждать, что гликолиз более эволюционно древний путь метаболизма, поскольку окислительное фосфорилирование возникло гораздо позже, только после интеграции митохондрии в прокариотический организм. Таким образом, интегрированный ответ на стресс приводит к масштабному эволюционному упрощению опухолевой клетки, затрагивая не только адаптивные гены, но и изменяя метаболизм.

Конечно же, аутофагия регулируется на посттрансляционном уровне, но основная регуляция идет через транскрипционный фактор ATF4, который активируется при интегрированном ответе клетки на стресс. Возможно, ATF4 может служить предпочтительной терапевтической мишенью, и его супрессия позволит подавить интегрированный ответ на стресс и, в частности, снизить уровень активности аутофагии и шаперонов. Уже существуют препараты, подавляющие фосфорилирование фактора eIF2 α , что предотвращает активацию ATF4 (Tian et al., 2021). Например, препарат ISRIB является ингибитором интегрированного ответа на стресс и нарушает синтез транскрипционного фактора ATF4 (Tian et al., 2021). Шапероны могут, как и аутофагия, не только способствовать дифференцировке, но и поддерживать стволовость. Сообщается о роли Hsp90 в поддержании плюрипотентности эмбриональных стволовых клеток и в экспрессии факторов плюрипотентности, особенно *Oct4* и *Nanog* (Bradley et al., 2012).

Одним из адаптивных генов, поддерживающих неограниченную пролиферацию, является *c-myc*. Было показано, что окислительный стресс активирует сигнальные пути, отвечающие за выживание и находящиеся в зависимости от фосфорилирования фактора *c-myc*, которое приводит к устойчивости опухолевых клеток к окислительному стрессу (Venassi et al., 2006). В ответ на окислительный стресс опухолевая клетка использует активные формы кислорода в качестве промежуточных продуктов для выживания и активации агрессивного поведения, а также перестройки цитоскелета, лежащего в основе подвижности (Pani et al., 2010). Таким образом, окислительный стресс вносит свой вклад в метастазирование и рецидивы опухолей, он активирует адаптивные гены, которые способствуют выживанию.

Гипоксия при раке поджелудочной железы увеличивает злокачественный потенциал опухоли, в частности ее способность к метастазированию (Buchler et al., 2004). Таким образом, различные виды стресса способствуют опухолевой прогрессии и устойчивости опухолевых клеток к терапии.

СИСТЕМА ПРОТЕОСТАЗА И МНОЖЕСТВЕННАЯ ЛЕКАРСТВЕННАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ

Проведение длительной терапии часто сопровождается приобретением опухолевыми клетками множественной лекарственной устойчивости (МЛУ). Аутофагия имеет неоднозначное значение для приобретения клетками МЛУ. С одной стороны, она способствует приобретению клетками фенотипа МЛУ и защищает опухолевые клетки от химиотерапии, а с другой — может активировать апоптоз в тех клетках, в которых он неактивен. В то же время ингибирование аутофагии увеличивает чувствительность опухолевых клеток яичника с фенотипом МЛУ к проводимой химиотерапии, стимулируя апо-

птоз этих клеток (Liang et al., 2016). Показано, что аутофагия может быть причиной развития фенотипа МЛУ за счет ингибирования апоптоза в опухолевых клетках молочной железы (Sun et al., 2015). Можно предположить, что развитие фенотипа МЛУ также является своеобразным ответом клетки на стресс.

Относительно недавно была описана взаимосвязь между АВС-транспортерами, к которым относится Р-гликопротеин, и аутофагией. Р-гликопротеин является трансмембранной помпой, которая выкачивает из опухолевых клеток лекарственные препараты в независимости от их конформации. Было показано, что уровень экспрессии АВС-транспортеров позитивно коррелирует с экспрессией LC3, Beclin 1 (маркеров активации аутофагии) и Рictor и негативно коррелирует с экспрессией Рaptor в образцах опухолей толстой кишки. Было установлено, что аутофагия, которую вызывает химиотерапия, способствует устойчивости опухолевых клеток к цитостатикам паклитакселу, тамоксифену, эпирубицину и другим (Li et al., 2017).

Белки теплового шока, как и аутофагия, относятся к системе протеостаза и также участвуют в формировании фенотипа МЛУ. Было показано, что ингибирование Hsp90 приводит к деградации определенных белков и снижает устойчивость к противоопухолевым препаратам. Авторами было установлено, что экспрессия Hsp90 выше в клетках меланомы, устойчивых к мелфалану, а ингибиторы Hsp90 восстанавливают чувствительность меланомы к этому препарату. Ингибирование Hsp90 приводит к подавлению Src и его нижележащих эффекторов, к которым относятся ERK, AKT и NF- κ B (Tabata et al., 2020). HSF1 является транскрипционным фактором, регулирующим белки теплового шока, он также контролирует множество путей, участвующих в становлении фенотипа МЛУ. HSF1 регулирует экспрессию MDR1/P-gp на уровне транскрипции, что следует из экспериментов с HSF1⁺ (аденовирусной конструкцией, несущей к ДНК HSF1), который связывает консенсусные элементы белка теплового шока (HSE) в промоторе гена *MDR1* (Vilaboa et al., 2000). Таким образом, HSF1 может регулировать экспрессию Р-гликопротеина в условиях стресса и тем самым активировать белки теплового шока и ген *mdr1* одновременно. HSF1 вызывает транскрипционную активность белков теплового шока Hsp70/Hsp27, которые защищают опухолевые клетки от апоптоза (Kim et al., 2015a).

Показано (Wang et al., 2013), что ингибитор Hsp90 препарат SNX-2112 эффективно индуцирует апоптоз и вторичный некроз в лейкозных клетках К-562/ADR. Клетки под действием этого препарата останавливали клеточный цикл. Апоптоз в этих клетках активировался митохондриями, продуцирующими цитохром *c*. Также этот препарат активировал каспазы 3, 8 и 9. Параллельно этим эффектам этот препарат инактивировал сигнальные пути Akt и NF- κ B, что способствовало апоптозу (Wang et al., 2013). Уровень экс-

прессии Р-гликопротеина и шаперонов, связанных с лекарственной устойчивостью, также снижался. Таким образом, авторы заключают, что ингибирование шаперонов может быть перспективным подходом к лечению лейкозов с фенотипом МЛУ (Wang et al., 2013). Ингибиторы Hsp90 на основе изоксазолонафтохинона способны непосредственно взаимодействовать с Р-гликопротеином и ингибировать его АТФазную активность. Эти соединения подавляют экспрессию Р-гликопротеина и снижают устойчивость к доксорубину и паклитакселу (Dinic et al., 2019). Можно заключить, что стресс, возникающий в опухолевых клетках в результате терапии, вызывает интегрированную защитную реакцию, в которую вовлечены аутофагия, шапероны и механизмы МЛУ, которая связана с неспособностью клетки к апоптозу и экспрессией АВС-транспортеров

В то же время старение клетки, особенно ускоренное старение, которое включается в ответ на стресс или экспрессию онкогенов, также является своеобразным ответом клетки на стресс. Известно, что старые клетки более устойчивы к воздействиям разного типа, и уровень апоптоза у них снижен. Интересно отметить, что в старых лимфоцитах увеличивается уровень экспрессии Р-гликопротеина, но его активность не возрастает (Vilas-Boas et al., 2011). По данным других авторов активность Р-гликопротеина также увеличивается с возрастом (Aggarwal et al., 1997). Экспрессия АВС-транспортеров является адаптивной реакцией опухолевой клетки, которая приводит к рецидивам резистентных опухолей (Li et al., 2017).

СИСТЕМА ПРОТЕОСТАЗА И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ НЕСТАБИЛЬНОСТЬ

Гибель и выживаемость клеток зависит от стабильности ДНК. Хромосомные аномалии и мутации приводят к гибели клеток, в том числе опухолевых. Перспективным подходом для терапии онкозаболеваний представляется возможность увеличения неустойчивости ДНК опухолевых клеток при радио- и химиотерапии. Этот эффект также может быть достигнут при нивелировании ответа клетки на стресс при снижении уровня аутофагии и шаперонов в клетке. Применение ингибиторов аутофагии и шаперонов может способствовать подавлению DDR-ответа и угнетению репарации ДНК (Apel et al., 2008; Dubrez et al., 2020). Нарушения аутофагии ассоциированы с повреждениями ДНК, амплификацией геномных регионов и нестандартным числом хромосом (Feng et al., 2017). Известно, что модуляция шаперонов также влияет на стабильность хромосом. Инактивация Hsp70 приводит к неустойчивости теломер, частым спонтанным абберациям (Pandita et al., 2004). Мы предполагаем, что сеть протеостаза одновременно с белковым балансом регулирует и стабильность ДНК. Иными словами, сеть протеостаза регулирует процессы жизни и смерти клетки на белковом уровне и уровне ДНК. Так осуществляется

контроль генетических процессов со стороны белкового или клеточного уровня, поскольку всякая биологическая система многоуровневая и регулируется сетью взаимодействий.

Как уже говорилось выше, аутофагия эволюционно консервативный процесс, который активируется в опухолевых клетках как интегральный ответ на стресс после проведения радио- и химиотерапии (Kim et al., 2015b). Аутофагия может способствовать выживанию опухолевых клеток, быть механизмом устойчивости к проводимой терапии или быть причиной их гибели. Но эффект цитопротекции можно ожидать вероятнее, чем гибель опухолевых клеток от аутофагии (Chen et al., 2009). Известно, что блокада генов аутофагии *Beclin1*, *Atg3*, *Atg4b*, *Atg4c*, *Atg5* и *Atg12* с помощью специфических siRNA приводит к ингибированию аутофагии и увеличению цитотоксичности радиотерапии в устойчивых к терапии опухолевых клетках (Apel et al., 2008). В опухолевых клетках наблюдается повышенный уровень аутофагии, что и является причиной их радио- и хемотрепивности. Аутофагия активируется в ответ на повреждение ДНК. АТМ позитивно регулирует аутофагию через AMPK и TSC1/2 (Zhang et al., 2015). Было установлено, что отсутствие аутофагии ингибирует репарацию ДНК, приводит к персистенции повреждений генома и быстрой клеточной гибели (Zhang et al., 2015). Белковый комплекс mTORC1 негативно регулирует аутофагию и может быть мишенью для терапии, увеличивающей нестабильность ДНК в опухолевых клетках (Condon, Sabatini, 2019).

Известно, что некоторые сенсоры повреждений ДНК, такие как FOXO3a, АТМ, АТР и p53 являются важными регуляторами аутофагии, и поэтому аутофагия играет важную роль в реакциях на повреждение ДНК. Подавление или отмена аутофагии вызывает увеличение повреждений ДНК. Во время DDR-ответа аутофагия может действовать как источник энергии для поддержания остановки клеточного цикла и поддержания активности репарации ДНК. Индукция аутофагии рапамицином снижает генотоксическую активность окислительного стресса. Это исследование подтверждает цитопротективную роль аутофагии и говорит о том, что ее ингибирование может повысить чувствительность опухолевых клеток к агентам, повреждающим ДНК (Galati et al., 2019). Известно, что если повреждения ДНК оказываются нерепарируемыми, аутофагия может активировать клеточную гибель. Сигнальные пути, которые активируют аутофагию после ДНК-повреждений, затрагивают DDR-киназы АТМ, АТР и ДНК-ПК, и это приводит к инактивации комплекса mTORC1, который, как уже говорилось выше, является ингибитором аутофагии (Anand et al., 2020; Juretschke, Beli, 2021).

Интересно отметить, что цитоплазматический p53 подавляет аутофагию, а ядерный p53 ее стимулирует (Lin et al., 2018). Именно p53 решает во многом

судьбу клетки после повреждений ДНК. Либо повреждения ДНК репарируются, либо, если они слишком серьезны, клетка отправляется в апоптоз (Roshani-Asl et al., 2020). Множество протеинов, которые участвуют в процессе аутофагии, регулируются p53, который вовлекает в регуляцию такие белки как DRAM, DAPK и AMPK (Anand et al., 2020).

С большой вероятностью можно предположить, что митохондриальная ДНК гораздо более сильно подвержена повреждениям, чем ядерная ДНК по той причине, что расположена в непосредственной близости к месту генерации свободных радикалов. В зависимости от степени повреждения запускается либо механизм восстановления митохондриальной ДНК, либо митофагия (Anand et al., 2020). Есть предположение (Chao et al., 2021), что при гамма-облучении подавление аутофагии вызывает не связанную с апоптозом проницаемость мембраны митохондрии, в результате чего высвобождается митохондриальная эндонуклеаза G, которая перемещается в ядро и вызывает повреждения ядерной ДНК. Этими же авторами (Chao et al., 2021) было показано, что блокировка функций лизосом приводит к утечке митохондриальной ДНК в цитозоль, что приводит к образованию митохондрий без эндонуклеазы G и накоплению эндонуклеазы G в ядре. Авторы считают, что аутофагия устраняет митохондрии с повышенной проницаемостью, вызванной повреждением митохондриальной ДНК, что предотвращает нестабильность генома, опосредованную эндонуклеазой G. Этими же авторами, было показано, что эндонуклеаза G поддерживает повреждения ядерной ДНК в клетках с дефектной аутофагией. Таким образом, аутофагия ограничивает выход эндонуклеазы G из митохондрий с поврежденной митохондриальной ДНК, чтобы поддержать целостность ядерного генома (Chao et al., 2021).

Однако для поддержания стабильности ДНК непосредственно в ядре, как уже говорилось выше, аутофагия имеет большое значение. Утрата аутофагии связана с повышенным повреждением ДНК, неправильной амплификацией геномных областей и аномальным числом хромосом (Feng et al., 2017). В недавней работе раскрывается механизм, посредством которого аутофагия регулирует убиквитинирование хроматина (Wang et al., 2016). В частности, рецептор аутофагии и субстрат SQSTM1/p62 ингибирует лигазу RNF168, что приводит к подавлению убиквитинирования гистонов в ответ на разрывы двухцепочечной ДНК. Нарушение регуляции этого процесса приводит к снижению способности к восстановлению ДНК и соответствующему повышению чувствительности клеток к радиационному повреждению (Wang et al., 2016; Feng et al., 2017).

Известно, что трансфекция клеток miPHK против SQSTM1/p62 приводит к возникновению обильных очагов ядерного конъюгированного убиквитина. Таким образом, нокдаун SQSTM1/p62 увеличивает полиубиквитинирование хроматина, а сверхэкспрессия

этого белка оказывает противоположный эффект. Поэтому считается, что SQSTM1/p62 является специфическим негативным регулятором убиквитинирования ДНК (Wang et al., 2016; Feng et al., 2017). Восстановление двухцепочечных разрывов обычно включает гомологичную рекомбинацию или нехомологичное воссоединение концов ДНК. Авторы обнаружили, что сниженная эффективность гомологичной рекомбинации, возникающая в результате ингибирования аутофагии, восстанавливается нокдауном *SQSTM1/p62*. Кроме того, последующее привлечение факторов репарации, включая BRCA1, RAP80 и Rad51 нарушается при сверхэкспрессии SQSTM1/p62 и ингибировании аутофагии, но снова может быть восстановлено путем нокдауна SQSTM1/p62. Данные, полученные авторами, свидетельствуют о том, что дефицит аутофагии в результате делеции *Atg3* приводит к нарушению рекрутирования факторов репарации ДНК в зависимости от SQSTM1/p62 (Wang et al., 2016; Feng et al., 2017). Убиквитинирование гистонов изменяет способность ДНК к репарации, приводя к образованию структур хроматина, способствующих сборке комплексов репарации на поврежденной ДНК. Убиквитинирование гистонов происходит вблизи двухцепочечных разрывов ДНК, что является ключевой стадией привлечения факторов репарации к месту повреждения. Рецептор-субстрат аутофагии SQSTM1/p62 деградирует, если аутофагия активна, и накапливается, если аутофагия подавлена.

Интересные результаты получены при изучении аутофагии на протоковой аденокарциноме поджелудочной железы (PDAC). Ингибирование аутофагии с помощью хлорокина приводило к значительному подавлению роста этих опухолевых клеток *in vivo* (ксенотрансплантация клеток PDAC под кожу голых мышей) (Yang et al., 2011). Авторы считают, что антипролиферативный эффект хлорокина был следствием угнетения аутофагии и увеличения повреждений ДНК. Ингибирование аутофагии с использованием siPHK к *Atg5* значительно увеличивало количество двухцепочечных разрывов ДНК, измеренное по количеству фокусов 53BP1. По данным исследования комет, количество DSB также возрастало после обработки клеток PDAC хлорокином (Yang et al., 2011). Аутофагия играет решающую роль в патогенезе PDAC, клетки которой проявляют повышенную конститутивную аутофагию. Результаты исследования показывают, что активная аутофагия обеспечивает рост PDAC, поддерживая окислительное фосфорилирование и стабильность ДНК (Yang et al., 2011).

Киназа ATM играет центральную роль в DDR и определяет баланс между старением и апоптозом. Активированная ATM способствует аутофагии, в частности поддерживает лизосомно-митохондриальную ось, которая, в свою очередь, активирует старение и ингибирует апоптоз. Следовательно, ATM является ключевым фактором, который позволяет клеткам избежать апоптоза, вступая в старение, посредством модуляции аутофагии (Stagni et al., 2021).

Прежде всего, необходимо отметить, что аутофагия снижает уровень свободных радикалов, избавляя клетку от поврежденных митохондрий. Кроме того, повышается антиоксидантная защита в результате продукции Nrf2 при деградации KEAP1 в результате аутофагии (Hewitt, Korolchuk, 2017). Необходимо иметь в виду, что аутофагия влияет непосредственно на репарацию DSB. Нарушения аутофагии могут ингибировать репарацию через подавление гомологичной рекомбинации, либо усиливая протеосомную деградацию CHK1, либо увеличивая уровень SQSTM1/p62 в ядре. Ядерный SQSTM1/p62 нарушает гомологичную рекомбинацию, ингибируя убиквитинирование хроматина (Hewitt, Korolchuk, 2017).

Связующим звеном между шаперонами и аутофагией является BAG3. Это многофункциональный кошаперон Hsp70 и антиапоптотический белок, который взаимодействует с АТФазным доменом Hsp70 и играет ключевую физиологическую роль в клеточном протеостазе. Функционально взаимодействуя с Hsp70 и LC3, BAG3 доставляет полиубиквитинированные белки на путь аутофагии. Этот кошаперон обеспечивает одновременно устойчивость к апоптозу и аутофагическую активность. Одновременно BAG3 регулирует ключевые физиологические функции, включая адгезию, метастазирование и ангиогенез (Kogel et al., 2000).

Белки теплового шока также стабилизируют генном. Киназа CHK1 — первый фактор репарации ДНК, который связан с Hsp90. Взаимодействие между CHK1 и Hsp90 продемонстрировано иммунопреципитацией. Ингибирование Hsp90 запускает деградацию CHK1 по протеосомному пути. Клетки, обработанные ингибитором Hsp90 и собранные в разное время после облучения, имеют более длинные хвосты комет, чем просто облученные клетки. Это свидетельствует о том, что ингибирование Hsp90 не только замедляет сборку факторов репарации, но и угнетает сам процесс репарации ДНК (Sottile, Nadin, 2018). Белок Hsp90 необходим для поддержания фокусов γH2X и эффективной репарации повреждений ДНК после радиации. Нокаут по *Hsp90* усиливает чувствительность к радиации: облучение крысиных фибробластов, утративших HSF1, приводит к снижению фокусов p53BP в сайте поврежденной ДНК и снижает способность к репарации DSB по сравнению с клетками дикого типа (Sottile, Nadin, 2018).

Белки Hsp70 и Hsp27 ассоциируются с ферментами восстановления целостности ДНК после удаления азотистого основания, такими как AP-эндонуклеаза человека и ДНК-гликозилаза урацила (Mendez et al., 2000). Это наблюдение предполагает значительную роль белков теплового шока в механизмах репарации ДНК. Способность DDR реагировать на повреждение ДНК контролируется балансом между синтезом и деградацией клиентских белков, которое регулируется Hsp. Hsp90, в

частности, связывается с белками DDR и предотвращает их убиквитинирование и деградацию. Эти белки включают CHK1, MLH1, MLH2, APE1 и другие (Ikwegbue et al., 2019). Повреждение ДНК запускает сложный сигнальный каскад, включающий множество событий поэтапного фосфорилирования белков. Обнаружено, что остаток треонина 7 в белке Hsp90 фосфорилируется сразу после повреждения ДНК. Фосфорилированный Hsp90 затем накапливается в местах двухцепочечных разрывов и образует очаги репарации с медленной кинетикой, соответствующей кинетике сложного повреждения ДНК (Quanz et al., 2012).

Фосфорилирование Hsp90a зависит от фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K), включая ДНК-ПК. ДНК-ПК играет важную роль в восстановлении разрывов двухцепочечной ДНК путем нехомологичного воссоединения концов и передаче сигналов о повреждении ДНК (Quanz et al., 2012). С Hsp90 взаимодействует ядерный опухолевый супрессор BRCA1, который связан с репарацией двунитевых разрывов ДНК и принимает участие в гомологичной рекомбинации. Поскольку опухолевые клетки, экспрессирующие высокие уровни BRCA1 устойчивы к радиации и несколькими классами химиотерапевтических агентов, снижение экспрессии BRCA1 с помощью ингибиторов Hsp90 может восстановить чувствительность к противоопухолевым агентам (Pennisi et al., 2015). Восстановление стабильности ДНК после проведения химио- и радиотерапии позволяет опухоли выжить и вновь начать пролиферировать, что может иметь значение для последующего рецидива.

СИСТЕМА ПРОТЕОСТАЗА И АПОПТОЗ

Взаимосвязь между аутофагией и апоптозом активно изучается в последние годы. Нокдаун *Beclin1* или *Atg5* увеличивают чувствительность множественной миеломы к апоптозу, вызванному доксорубином. *Beclin1* формирует комплекс с PI3K III и стимулирует образование аутофагосом, активируя PI3K III. В то же время *Bcl2* непосредственно связывает *Beclin1* и блокирует его способность к индукции аутофагии (Pan et al., 2011). Существуют исследования, показывающие, что ингибирование аутофагии индуцирует апоптоз. Было показано, что нокдаун *DEPTOR*, который является ингибитором обоих комплексов mTOR, индуцирует апоптоз, увеличивает чувствительность к доксорубину, подавляет аутофагию и PI3K/Akt-сигналинг в клетках множественной миеломы (Zhang et al., 2013). Активная аутофагия в сочетании с дефектами апоптоза может способствовать злокачественной дифференцировке опухоли, что приводит к более злокачественному фенотипу опухолевых клеток и плохому прогнозу заболевания. Аутофагия поддерживает клеточный энергетический баланс и при ингибировании цитопротективной аутофагии может появиться шанс и для активации апоптоза. Так, известно, что увеличен-

ный уровень аутофагии в опухолевых клетках поджелудочной железы с низкой активностью гена *smad4* коррелировал со сниженной радиочувствительностью.

Процесс аутофагии может использоваться клетками для предотвращения или задержки апоптотической гибели в ответ на повреждение ДНК, поэтому ингибирование аутофагии может быть важным подходом для увеличения радиочувствительности опухолевых клеток (Wang et al., 2018). Считается, что опухолевые клетки имеют характерный метаболизм, в основном вызванный изменениями в сетях передачи сигналов, а не мутациями в генах, ответственных за метаболизм. Было установлено (Gremke et al., 2020), что некоторые опухолевые клетки с приобретенной лекарственной устойчивостью проявляют чувствительность к ингибиторам метаболизма.

За клеточный метаболизм во многом отвечает комплекс mTORC1. Именно он отвечает за метаболическую уязвимость опухолевых клеток. Он способствует устойчивости к химиотерапии и одновременно подавляет аутофагию (Gremke et al., 2020). Опосредованное mTORC1 подавление аутофагии необходимо и достаточно для создания метаболической уязвимости, приводящей к энергетическому кризису и апоптозу. Этими же авторами было установлено (Gremke et al., 2020), что конститутивная активация передачи сигналов от mTORC1 в опухолях с приобретенной устойчивостью к химиотерапии подавляет аутофагию и лишает клетки мощного механизма выживания за счет метаболических нарушений, вызванных различными соединениями, нацеленными на метаболизм. Аутофагия имеет решающее значение для выживания клеток в условиях энергетического стресса, вызванного нехваткой питательных веществ (Gremke et al., 2020).

Тройной негативный рак молочной железы очень трудно поддается лечению из-за приобретенной устойчивости к химиотерапии. Было показано, что BAG3 имеет повышенную экспрессию при химио-резистентном раке молочной железы. Снижение экспрессии BAG3 с помощью лентивирусной трансдукции siRNA увеличивает чувствительность опухолевых клеток молочной железы к терапии с помощью 5-фторурацила, доксорубина и доцетаксела. На опухолевых клетках молочной железы было показано, что повышенная устойчивость к апоптозу связана с усиленной цитопротективной аутофагией, повышенной экспрессией кошаперона BAG3, BAG3-зависимой стабилизацией белков Bcl-2, способствующих выживанию, и индукцией изменений, подобных эпителио-мезенхимному переходу в экспрессии генов (Das et al., 2018b).

Таким образом, процессы аутофагии часто являются причиной лекарственной устойчивости опухолевых клеток, они стабилизируют геном и снижают способность к апоптозу. В то же время в терапевтических подходах к лечению рака молочной железы, о

котором говорилось выше, не все так однозначно. Наблюдения говорят о том, что нарушения пути PI3K/AKT/mTOR выявляется более, чем в 70% опухолей молочной железы (Ozates et al., 2021). Этими авторами было установлено действие препарата AZD3463 как антиканцерогенного агента, который одновременно индуцирует апоптоз и аутофагию. В результате экспериментов было показано, что рапамицин, подавляющий mTORC1-сигналинг и индуцирующий аутофагию, усиливает действие AZD3463. Внесение в культуру опухолевых клеток молочной железы препарата AZD3463 совместно с рапамицином значительно снижало выживаемость опухолевых клеток, при этом увеличивалась активность аутофагии, апоптоза и увеличивалась доля клеток на границе фаз G₀/G₁ (Ozates et al., 2021). Эти результаты показали, что индукция аутофагии снижала устойчивость опухолевых клеток к терапии и вызывала в них апоптоз (Ozates et al., 2021). Однако, несмотря на встречающиеся противоречивые данные, считается, что аутофагия промотирует лекарственную устойчивость.

В работах последних лет пристальное внимание уделяется оксидоредуктазе, содержащей домен WW; ей отводится решающая роль в индукции апоптоза и подавлении аутофагии в опухолях различного гистогенеза (Zhao et al., 2021). Трудность терапии эпителиального рака яичника паклитакселем заключается в высокой хеморезистентности этих раковых клеток. На клеточной линии карциномы яичника A2780 было установлено, что паклитаксел вызывал аутофагический флюкс в этих клетках, увеличивая экспрессию генов аутофагии, например, *Beclin1*, *LC3*, и снижая уровень субстрата аутофагии SQSTM1/p62 (Zhao et al., 2021). Данные конфокальной микроскопии подтверждали визуально отмеченное накопление аутофагосом. Эксперименты по трансфекции оксидоредуктазой, содержащей домен WW, показали, что этот фермент активирует mTORC1 и ингибирует аутофагию, он также увеличивает апоптоз в исследуемой клеточной линии, обработанной паклитакселем (Zhao et al., 2021).

Несмотря на очевидный прогресс в понимании взаимосвязи между апоптозом и аутофагией, основные регуляторы этих процессов остаются неизвестными. Роль N-концевого аргинилированного комплекса BIP (R-BIP)/Beclin1/p62 исследуется с целью установления роли этого комплекса в перекрестных взаимодействиях между апоптозом и аутофагией. На модели ксенотрансплантации голым мышам клеток колоректального рака была оценена противоопухолевая эффективность комбинированного лечения. Было показано, что бортезомиб в сочетании с митомицином C синергически индуцировал цитотоксичность и апоптоз. Эта комбинация лекарств инaktivировала киназу Akt и индуцировала дефосфорилирование Beclin1. Дефосфорилирование Beclin1 было причиной расщепления Beclin1 и разрушения комплекса (R-BIP)/Beclin1/p62, что приводило к пере-

ключению аутофагии на индукцию апоптоза. Эта комбинация лекарств значительно подавляла рост внутрибрюшинного ксенотрансплантата. Результаты показали, что BIP обладает анти-апоптотическими свойствами и действует как индуктор аутофагии. Таким образом, было установлено, что сочетанное воздействие митомицина C и бортезомиба индуцирует апоптоз, инактивирует Akt, разрушает BIP/Beclin1/p62 и снижает аутофагию (Song et al., 2018).

Молекулярный шаперон Hsp70 прямо или косвенно регулирует внутренние и внешние пути апоптоза. Нокдаун Hsp70 повышает чувствительность клеток к апоптозу. Hsp70 влияет на высвобождение цитохрома c, активность каспаз, образование активных форм кислорода и фрагментацию ДНК. Ингибируя активность каспаз, этот шаперон блокирует внешние и внутренние пути апоптоза. Кроме того, Hsp70 блокирует TNF- α опосредованный апоптоз, подавляя этим внешний путь апоптоза (Kumar et al., 2016).

Вызванная стрессом гибель клеток находится под контролем семейства регуляторов апоптоза Bcl-2. Клетки, подверженные стрессовым условиям, имеют повышенную экспрессию Hsp70. Этот молекулярный шаперон действует на нескольких уровнях для подавления индуцированных стрессом апоптотических сигналов некоторых членов семейства Bcl-2. Он восстанавливает и стабилизирует развернутые белки и индуцирует повторный синтез поврежденных белков. Поэтому синтез Hsp70 может считаться необходимым механизмом для восстановления, выживания клеток и их адаптации в летальных условиях (Roufayer, Kadry, 2019).

Белки протеостаза, обладающие шаперонной активностью, защищают клетки от резких изменений окружающей среды. Во время онкогенеза эти взаимодействия шаперонов интенсивно реконструируются таким образом, что становятся выгодны для трансформирующейся клетки. Они ускоряют эволюцию опухоли, приводя к химиорезистентности и снижая ее способность к апоптозу. Шапероны необходимы для выполнения белком p53 своей функции онкосупрессора, но эти же шапероны действуют иначе при мутации p53. Известно, что они “разматывают” мутантный белок p53, обнажая участки, склонные к агрегации. Это приводит к выключению других белков онкосупрессоров, что вызывает ингибирование апоптоза и химиорезистентность (Wawrzynow et al., 2018).

Система протеостаза, включающая, в частности, шапероны и аутофагию, формирует разветвленную сеть взаимодействий, позволяющую чувствовать малейшие изменения гомеостаза. Терапевтические воздействия включают интегральный клеточный ответ на стресс, приводящий к химио- и радиорезистентности опухолевых клеток. Последствием такого ответа может явиться стабилизация генома и снижение способности к апоптозу. Подавление систем

аутофагии и шаперонов позволит увеличить генетическую нестабильность опухолей, увеличить апоптоз, привести к сбою процессов синтеза и деградации белков. Таким образом, ингибирование систем протеостаза позволит модулировать клеточные процессы на клеточном и белковом уровне, а также на уровне ДНК.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате интегрированного ответа опухолевой клетки на стресс, который часто активирует проводимая терапия, клетка движется по определенным “рельсам”, приобретая все большую автономность и злокачественность. Это дает ей возможность прогрессировать гораздо быстрее, чем это позволили бы ей сделать случайные мутации. В числе прочих реакций на стресс активируются аутофагия и шапероны. Это позволяет клетке обрести все большую независимость от микроокружения, приобрести стволовые свойства и лекарственную устойчивость, избежать апоптоза, восстановить стабильность ДНК и в дальнейшем активно пролиферировать, приводя к рецидивам онкозаболеваний. По всей видимости, ответ на стресс сопровождается активацией адаптивных генов, способствующих выживанию, и приводит к определенному эволюционному упрощению, позволяющему клетке активно делиться. Понимание этих механизмов делает возможным разработку новых терапевтических подходов, основанных на нивелировании клеточного ответа на стресс.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 22-25-20229; <https://rscf.ru/project/22-25-20229/>) и Санкт-Петербургского научного фонда в соответствии с соглашением от 13 апреля 2022 г. № 05/2022.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Работа не включала эксперименты с участием животных или людей.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Aggarwal S., Tsuruo T., Gupta S.J. 1997. Altered expression and function of P-glycoprotein (170 kDa), encoded by the MDR 1 gene, in T cell subsets from aging humans. *Clin. Immunol.* V. 17. P. 448.
<https://doi.org/10.1023/a:1027363525408>
- Albakova Z., Armeev G.A., Kanevski L.M., Kovalenko E.I., Sapozhnikov A.M. 2020. HSP70 multi-functionality in cancer. *Cells.* V. 9. P. 587.
<https://doi.org/10.3390/cells9030587>
- Anand S.K., Sharma A., Singh N., Kakkar P. 2020. Entrenching role of cell cycle checkpoints and autophagy for maintenance of genomic integrity. *DNA Repair (Amst).* V. 86. P. 102748.
<https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2019.102748>
- Apel A., Herr I., Schwarz H., Rodemann P., Mayer A. 2008. Blocked autophagy sensitizes resistant carcinoma cells to radiation therapy. *Cancer Res.* V. 68. P. 1485.
<https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-07-0562>
- Benassi B., Fanciulli M., Fiorentino F., Porrello A., Chiorino G., Loda M., Zupi G., Biroccio A. 2006. c-Myc phosphorylation is required for cellular response to oxidative stress. *Mol. Cell.* V. 21. P. 509.
<https://doi.org/10.1016/j.molcel.2006.01.009>
- Bradley E., Bieberich E., Mivechi N.F., Tangpisuthipongsa D., Wang G. 2012. Regulation of embryonic stem cell pluripotency by heat shock protein 90. *Stem Cells.* V. 30. P. 1624.
<https://doi.org/10.1002/stem.1143>
- Büchler P., Reber H.A., Lavey R.S., Tomlinson J., Büchler M.W., Friess H., Hines O.J. 2004. Tumor hypoxia correlates with metastatic tumor growth of pancreatic cancer in an orthotopic murine model. *J. Surg. Res.* V. 120. P. 295.
<https://doi.org/10.1016/j.jss.2004.02.014>
- Chakraborty C., Agoramoorthy G. 2012. Stem cells in the light of evolution. *Indian J. Med. Res.* V. 135. P. 813.
- Chao T., Shih H.T., Hsu S.C., Chen P.J., Fan Y.S., Jeng Y.M., Shen Z.Q., Tsai T.F., Chang Z.F. 2021. Autophagy restricts mitochondrial DNA damage-induced release of ENDOG (endonuclease G) to regulate genome stability. *Autophagy.* V. 17. P. 3444.
<https://doi.org/10.1080/15548627.2021.1874209>
- Chen N., Karantza-Wadsworth V. 2009. Role and regulation of autophagy in cancer. *Biochim. Biophys. Acta.* V. 1793. P. 1516.
<https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2008.12.013>
- Condon K.J., Sabatini D.M. 2019. Nutrient regulation of mTORC1 at a glance. *J. Cell Sci.* V. 132. P. jcs222570.
<https://doi.org/10.1242/jcs.222570>
- Das C.K., Mandal M., Kögel D. 2018a. Pro-survival autophagy and cancer cell resistance to therapy. *Cancer Metastasis Rev.* V. 37. P. 749.
<https://doi.org/10.1007/s10555-018-9727-z>
- Das C.K., Linder B., Bonn F., Rothweiler F., Dikic I., Michaelis M., Cinatl J., Mandal M., Kögel D. 2018b. BAG3 overexpression and cytoprotective autophagy mediate apoptosis resistance in chemoresistant breast cancer cells. *Neoplasia.* V. 20. P. 263.
<https://doi.org/10.1016/j.neo.2018.01.001>
- Dinić J., Podolski-Renić A., Jovanović M., Musso L., Tsakovska I., Pajeva I., Dallavalle S., Pešić M. 2019. Novel heat shock protein 90 inhibitors suppress P-Glycoprotein activity and overcome multidrug resistance in cancer cells. *Int. J. Mol. Sci.* V. 20. P. 4575.
<https://doi.org/10.3390/ijms20184575>
- Dubrez L., Causse S., Bonan N.B., Dumétier B., Garrido C. 2020. Heat-shock proteins: chaperoning DNA repair. *Oncogene.* V. 39. P. 516.
<https://doi.org/10.1038/s41388-019-1016-y>
- Erenpreisa J., Salmina K., Anatskaya O., Cragg M.S. 2022. Paradoxes of cancer: survival at the brink. *Semin. Cancer Biol.* V. 81. P. 119.
<https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2020.12.009>

- Feng Y., Klionsky D.J. 2017. Autophagy regulates DNA repair through SQSTM1/p62. *Autophagy*. V. 13. P. 995. <https://doi.org/10.1080/15548627.2017.1317427>
- Galati S., Boni C., Gerra M.C., Lazzaletti M., Buschini A. 2019. Autophagy: a player in response to oxidative stress and DNA damage. *Oxid. Med. Cell Longev.* V. 2019. P. 5692958. <https://doi.org/10.1155/2019/5692958>
- Gomes L.R., Menck C.F.M., Leandro G.S. 2017. Autophagy roles in the modulation of DNA repair pathways. *Int. J. Mol. Sci.* V. 18. P. 2351 <https://doi.org/10.3390/ijms18112351>
- Gremke N., Polo P., Dort A., Schneikert J., Elmshäuser S., Brehm C., Klingmüller U., Schmitt A., Reinhardt H.C., Timofeev O., Wanzel M., Stiewe T. 2020. mTOR-mediated cancer drug resistance suppresses autophagy and generates a druggable metabolic vulnerability. *Nat. Commun.* V. 11. P. 4684. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18504-7>
- Hewitt G., Korolchuk V.I. 2017. Repair, reuse, recycle: The expanding role of autophagy in genome maintenance. *Trends Cell Biol.* V. 27. P. 340. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2016.11.011>
- Ikwegbue P.C., Masamba P., Mbatha L.S., Oyinloye B.E., Kap-po A.P. 2019. Interplay between heat shock proteins, inflammation and cancer: a potential cancer therapeutic target. *Am. J. Cancer Res.* V. 9. P. 242.
- Jewer M., Lee L., Leibovitch M., Zhang G., Liu J., Findlay S.D., Vincent K.M., Tandoc K., Dieters-Castator D., Quail D.F., Dutta I., Coatham M., Xu Z., Puri A., Guan B.J. et al. 2020. Translational control of breast cancer plasticity. *Nat. Commun.* V. 11. P. 2498. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-16352-z>
- Juretschke T., Beli P. 2021. Causes and consequences of DNA damage-induced autophagy. *Matrix Biol.* V. 100–101. P. 39. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2021.02.004>
- Kametaka S., Okano T., Ohsumi M., Ohsumi Y. 1998. Apg14p and Apg6/Vps30p form a protein complex essential for autophagy in the yeast, *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biol. Chem.* V. 273. P. 22284. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.35.22284>
- Karabici M., Alptekin S., Firtina Karagonlar Z., Erdal E. 2021. Doxorubicin-induced senescence promotes stemness and tumorigenicity in EpCAM-/CD133- nonstem cell population in hepatocellular carcinoma cell line, HuH-7. *Mol. Oncol.* V. 15. P. 2185. <https://doi.org/10.1002/1878-0261.12916>
- Kim H.B., Lee S.H., Um J.H., Oh W.K., Kim D.W., Kang C.D., Kim S.H. 2015a. Sensitization of multidrug-resistant human cancer cells to Hsp90 inhibitors by down-regulation of SIRT1. *Oncotarget*. V. 6. P. 36202. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.5343>
- Kim B.M., Hong Y., Lee S., Liu P., Lim J.H., Lee Y.H., Lee T.H., Chang K.T., Hong Y. 2015b. Therapeutic implications for overcoming radiation resistance in cancer therapy. *Int. J. Mol. Sci.* V. 16. P. 26880. <https://doi.org/10.3390/ijms161125991>
- Kögel D., Linder B., Brunschweiler A., Chines S., Behl C. 2020. At the crossroads of apoptosis and autophagy: multiple roles of the co-chaperone BAG3 in stress and therapy resistance of cancer. *Cells*. V. 9. P. 574. <https://doi.org/10.3390/cells9030574>
- Kumar S., Stokes J. 3rd, Singh U.P., Scisum Gunn K., Acharya A., Manne U., Mishra M. 2016. Targeting Hsp70: A possible therapy for cancer. *Cancer Lett.* V. 374. P. 156. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2016.01.056>
- Li Y.J., Lei Y.H., Yao N., Wang C.R., Hu N., Ye W.C., Zhang D.M., Chen Z.S., Chin J. 2017. Autophagy and multidrug resistance in cancer. *Cancer*. V. 36. P. 52. <https://doi.org/10.1186/s40880-017-0219-2>
- Liang B., Liu X., Liu Y., Kong D., Liu X., Zhong R., Ma S. 2016. Inhibition of autophagy sensitizes MDR-phenotype ovarian cancer SKVCR cells to chemotherapy. *Biomed. Pharmacother.* V. 82. P. 98. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.04.054>
- Lin F., Gao L., Su Z., Cao X., Zhan Y., Li Y., Zhang B. 2018. Knockdown of KPNA2 inhibits autophagy in oral squamous cell carcinoma cell lines by blocking p53 nuclear translocation. *Oncol. Rep.* V. 40. P. 179. <https://doi.org/10.3892/or.2018.6451>
- Liu J., Chang B., Li Q., Xu L., Liu X., Wang G., Wang Z., Wang L. 2019. Redox-responsive dual drug delivery nanosystem suppresses cancer repopulation by abrogating doxorubicin-promoted cancer stemness, metastasis, and drug resistance. *Adv. Sci. (Weinh.)* V. 6. P. 1801987. <https://doi.org/10.1002/advs.201801987>
- Margulis B., Tsimokha A., Zubova S., Guzova I. 2020. Molecular chaperones and proteolytic machineries regulate protein homeostasis in aging cells. *Cells*. V. 9. P. 1308. <https://doi.org/10.3390/cells9051308>
- Mehta A.P., Supekova L., Chen J.H., Petonjasp K., Webster P., Ko Y., Henderson S.C., McDermott G., Supek F., Schullz P.G. 2018. Engineering yeast endosymbionts as a step toward the evolution of mitochondria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. V. 115. P. 11796–11801. <https://doi.org/10.1073/pnas.1813143115>
- Mendez F., Sandigursky M., Franklin W.A., Kenny M.K., Ku-reekattil R., Bases R. 2000. Heat-shock proteins associated with base excision repair enzymes in HeLa cells. *Radiat Res.* 153:186–195. [https://doi.org/10.1667/0033-7587\(2000\)153\[0186:hspawb\]-2.0.co;2](https://doi.org/10.1667/0033-7587(2000)153[0186:hspawb]-2.0.co;2)
- Menendez J.A., Vellon L., Oliveras-Ferraro C., Cufí S., Vazquez-Martin A. 2011. mTOR-regulated senescence and autophagy during reprogramming of somatic cells to pluripotency: a roadmap from energy metabolism to stem cell renewal and aging. *Cell Cycle*. V. 10. P. 3658. <https://doi.org/10.4161/cc.10.21.18128>
- Mizushima N. 2007. Autophagy: process and function. *Genes Dev.* V. 21. P. 2861. <https://doi.org/10.1101/gad.1599207>
- Ozates N.P., Soğutlu F., Lerminoglu F., Demir B., Gunduz C., Shademan B. 2021. Effects of rapamycin and AZD3463 combination on apoptosis, autophagy, and cell cycle for resistance control in breast cancer. *Life Sci.* V. 264. P. 118643. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118643>
- Pan Y., Gao Y., Chen L., Gao G., Dong H., Yang Y., Dong B., Chen X. 2011. Targeting autophagy augments in vitro and in vivo antitumor activity of DNA-damaging chemotherapy. *Clin. Cancer Res.* V. 17. P. 3248. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-10-0890>

- Pandita T.K., Higashikubo R., Hunt C.R.* 2004. HSP70 and genomic stability. *Cell Cycle*. V. 3. P. 591.
<https://doi.org/10.4161/cc.3.5.863>
- Pani G., Galeotti T., Chiarugi P.* 2010. Metastasis: cancer cell's escape from oxidative stress. *Cancer Metastasis Rev.* V. 29. P. 351.
<https://doi.org/10.1007/s10555-010-9225-4>
- Pennisi R., Ascenzi P., di Masi A.* 2015. Hsp90: a new player in DNA repair? *Biomolecules*. V. 5. P. 2589.
<https://doi.org/10.3390/biom5042589>
- Quanz M., Herbet A., Sayarath M., Koning L., Dubois T., Sun J.S., Dutreix M.* 2012. Heat shock protein 90 α (Hsp90 α) is phosphorylated in response to DNA damage and accumulates in repair foci. *J. Biol. Chem.* V. 287. P. 8803.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M111.320887>
- Roshani-Asl E., Mansori B., Mohammadi A., Najafi S., Danesh-Pouya F., Rasmi Y.* 2020. Interaction between DNA damage response and autophagy in colorectal cancer. *Gene*. V. 730. P. 144323.
<https://doi.org/10.1016/j.gene.2019.144323>
- Roufayel R., Kadry S.* 2019. Molecular chaperone HSP70 and key regulators of apoptosis – A review. *Curr. Mol. Med.* V. 19. P. 315.
<https://doi.org/10.2174/1566524019666190326114720>
- Sannino S., Yates M.E., Schurdak M.E., Oesterreich S., Lee A.V., Wipf P., Brodsky J.L.* 2021. Unique integrated stress response sensors regulate cancer cell susceptibility when Hsp70 activity is compromised. *Elife*. V. 10. P. e64977.
<https://doi.org/10.7554/eLife.64977>
- Smith A.G., Macleod K.F.* 2019. Autophagy, cancer stem cells and drug resistance. *J. Pathol.* V. 7. P. 708.
<https://doi.org/10.1002/path.5222>
- Song X., Lee D.H., Dilly A.K., Lee Y.S., Choudry H.A., Kwon Y.T., Bartlett D.L., Lee Y.J.* 2018. Crosstalk between apoptosis and autophagy is regulated by the arginylated BiP/Beclin-1/p62 complex. *Mol. Cancer Res.* V. 16. P. 1077.
<https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-17-0685>
- Sottile M.L., Nadin S.B.* 2018. Heat shock proteins and DNA repair mechanisms: an updated overview. *Cell Stress Chaperones*. V. 23. P. 303.
<https://doi.org/10.1007/s12192-017-0843-4>
- Stagni V., Ferri A., Cirotti C., Barilà D.* 2021. ATM kinase-dependent regulation of autophagy: a key player in senescence? *Front. Cell Dev. Biol.* V. 8. P. 599048.
<https://doi.org/10.3389/fcell.2020.599048>
- Sun W.L., Lan D., Gan T.Q., Cai Z.W.* 2015. Autophagy facilitates multidrug resistance development through inhibition of apoptosis in breast cancer cells. *Neoplasma*. V. 62. P. 199.
https://doi.org/10.4149/neo_2015_025
- Tabata M., Tsubaki M., Takeda T., Tateishi K., Maekawa S., Tsurushima K., Imano M., Satou T., Ishizaka T., Nishida S.* 2020. Inhibition of HSP90 overcomes melphalan resistance through downregulation of Src in multiple myeloma cells. *Clin. Exp. Med.* V. 20. P. 63.
<https://doi.org/10.1007/s10238-019-00587-2>
- Tian X., Zhang S., Zhou L., Seyhan A.A., Hernandez Borrero L., Zhang Y., El-Deiry W.S.* 2021. Targeting the integrated stress response in cancer therapy. *Front. Pharmacol.* V. 12. P. 747837.
<https://doi.org/10.3389/fphar.2021.747837>
- Tian Z.C., Wang J.Q., Ge H.J.* 2019. Apatinib ameliorates doxorubicin-induced migration and cancer stemness of osteosarcoma cells by inhibiting Sox2 via STAT3 signalling. *Orthop. Translat.* V. 22. P. 132.
<https://doi.org/10.1016/j.jot.2019.07.003>
- Trigos A.S., Pearson R.B., Papenfuss A.T., Goode D.L.* 2017. Altered interactions between unicellular and multicellular genes drive hallmarks of transformation in a diverse range of solid tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. V. 114. P. 6406.
- Vilaboa N.E., Galán A., Troyano A., de Blas E., Aller P.* 2000. Regulation of multidrug resistance 1 (MDR1)/P-glycoprotein gene expression and activity by heat-shock transcription factor 1 (HSF1). *J. Biol. Chem.* V. 275. P. 24970.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M909136199>
- Vilas-Boas V., Silva R., Gaio A.R., Martins A.M., Lima S.C., Cordeiro-da-Silva A., Bastos M.L., Remião F.* 2011. P-glycoprotein activity in human Caucasian male lymphocytes does not follow its increased expression during aging. *Cytometry A*. V. 79. P. 912.
<https://doi.org/10.1002/cyto.a.21135>
- Wang R., Shao F., Liu Z., Zhang J., Wang S., Liu J., Liu H., Chen H., Liu K., Xia M., Wang Y.* 2013. The Hsp90 inhibitor SNX-2112, induces apoptosis in multidrug resistant K562/ADR cells through suppression of Akt/NF- κ B and disruption of mitochondria-dependent pathways. *Chem. Biol. Interact.* V. 205. P. 1.
<https://doi.org/10.1016/j.cbi.2013.06.007>
- Wang Y., Zhang N., Zhang L., Li R., Fu W., Ma K., Li X., Wang L., Wang J., Zhang H., Gu W., Zhu W.G., Zhao Y.* 2016. Autophagy regulates chromatin ubiquitination in DNA damage response through elimination of SQSTM1/p62. *Mol. Cell*. V. 63. P. 34.
<https://doi.org/10.1016/j.molcel.2016.05.027>
- Wang F., Xia X., Yang C., Shen J., Mai J., Kim H.C., Kirui D., Kang Y., Fleming J.B., Koay E.J., Mitra S., Ferrari M., Shen H.* 2018. SMAD4 Gene mutation renders pancreatic cancer resistance to radiotherapy through promotion of autophagy. *Clin. Cancer Res.* V. 24. P. 3176.
<https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-3435>
- Wawrzynow B., Zylicz A., Zylicz M.* 2018. Chaperoning the guardian of the genome. The two-faced role of molecular chaperones in p53 tumor suppressor action. *Biochim. Biophys. Acta Rev. Cancer*. V. 1869. P. 161.
<https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2017.12.004>
- Yang S., Wang X., Contino G., Liesa M., Sahin E., Ying H., Bause A., Li Y., Stommel J.M., Dell'antonio G., Mautner J., Tonon G., Haigis M., Shiriha O.S., Doglioni C. et al.* 2011. Pancreatic cancers require autophagy for tumor growth. *Genes Dev.* V. 25. P. 717.
<https://doi.org/10.1101/gad.2016111>
- Zhang D., Tang B., Xie X., Xiao Y.F., Yang S.M., Zhang J.W.* 2015. The interplay between DNA repair and autophagy in cancer therapy. *Cancer Biol. Ther.* V. 16. P. 1005.
<https://doi.org/10.1080/15384047.2015.1046022>
- Zhang H., Chen J., Zeng Z., Que W., Zhou L.* 2013. Knockdown of DEPTOR induces apoptosis, increases chemosensitivity to doxorubicin and suppresses autophagy in RPMI-8226 human multiple myeloma cells *in vitro*. *Int. J. Mol. Med.* V. 31. P. 1127.
<https://doi.org/10.3892/ijmm.2013.1299>

The Role of the Integrated Response of Tumor Cells to Stress, Autophagy, and Chaperones in the Origin of Recurrent Resistant Tumors

S. G. Zubova^{a, *} and O. O. Gnedina^a

^a*Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, 194064 Russia*

^{*}*e-mail: egretta_julia@mail.ru*

Chemotherapy and radiotherapy are a colossal stress factor for tumor cells. In response to therapy, the entire evolutionarily fixed response of cells to stress is activated. This happens at all levels of cell organization, namely at the protein level and the DNA level. This response involves the cell proteostasis system, DNA repair systems, tumor suppressor genes, and many other cell systems. We will consider the role of the main systems of proteostasis in these processes, namely, macroautophagy and chaperones, which are part of the integrated response of the cell to stress. As a result of the cell's response to stress, the tumor cell becomes even less differentiated, activating the genes and intracellular systems necessary for survival. Cells that have responded to stress in this way have a more aggressive phenotype that is significantly more resistant to therapy. Under the influence of stress, the cell evolutionarily simplifies, which gives it additional chances for survival. On the one hand, autophagy contributes to a decrease in tumor cell differentiation and its plasticity, and on the other hand, it maintains a certain stability, being responsible for the integrity of the genome and freeing the cell from damaged organelles and defective proteins. Both autophagy and chaperones contribute to the acquisition of multidrug resistance by the tumor, which further complicates therapy. Understanding these processes makes it possible to develop new therapeutic approaches, taking into account the multistage nature of carcinogenesis.

Keywords: autophagy, chaperones, DNA stability, MDR phenotype, aging, apoptosis, stemness