

# ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ И АКТИВАЦИЯ СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ В РАДИОРЕЗИСТЕНТНЫХ И РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ РАКОВЫХ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЯХ

DOI: 10.17691/stm2016.8.2.02

УДК 577.21:616–006.6

Поступила 6.08.2015 г.



**Е.С. Глущенко**, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной и клеточной биологии Научно-исследовательского технологического института им. С.П. Капицы;

**С.М. Слесарев**, д.б.н., профессор, зав. кафедрой биологии, экологии и природопользования;

**А.А. Московкин**, к.б.н., начальник лаборатории радиобиологии кафедры радиационных технологий;

**В.М. Плотцев**, к.т.н., доцент кафедры радиационных технологий;

**Ю.В. Саенко**, д.б.н., начальник лаборатории молекулярной и клеточной биологии Научно-исследовательского технологического института им. С.П. Капицы

Ульяновский государственный университет, Ульяновск, 432017, ул. Л. Толстого, 42

**Цель исследования** — изучить дифференциальную экспрессию генов и активацию сигнальных путей в радиорезистентных и радиочувствительных раковых клеточных линиях.

**Материалы и методы.** Использованы радиорезистентная раковая клеточная линия хронического миелолейкоза K562 и радиочувствительные раковые клеточные линии НСТ-116р53 (+/+), НСТ-116р53 (–/–), Me45. Анализ транскриптома выполняли с применением гибридационных ДНК-чипов высокой плотности Affymetrix серии HGU133A. Биоинформационный анализ проводили с использованием оригинальной программы Gene Selector. Исследование сетей белковых взаимодействий выполняли с помощью онлайн-системы STRING. Для ранжирования генов по сигнальным путям использовали программу PANTHER и базу данных QIAGEN SABiosciences. Количественную активацию сигнальных путей рассчитывали с помощью биоинформационного алгоритма OncoFinder.

**Результаты.** Выявлено 4 гена: *DAAM1*, *IFNAR2*, *PALLD*, *STK17A*, экспрессия которых при лучевых воздействиях увеличивается в радиорезистентной клеточной линии и снижается в радиочувствительных клеточных линиях. С использованием программы PANTHER были найдены три сигнальных пути — Wnt signaling pathway, Interferon signaling pathway, p53 signaling pathway, — в которых задействованы эти гены и которые являются общими для исследуемых клеточных линий. Установлена значительная разница в активации найденных путей в радиорезистентной и радиочувствительных клеточных линиях.

**Заключение.** На основе анализа сетей молекулярных взаимодействий и активации сигнальных путей выявлено, что наибольшие отличия между радиорезистентной и радиочувствительной клеточными линиями наблюдаются в активности сигнальных путей Interferon signaling pathway и p53 signaling pathway. Экспрессия гена *TP53* не связана с активностью сигнального пути p53 signaling pathway. Сопоставление изменений экспрессии генов и активации сигнальных путей позволяет предложить в качестве индикаторов радиорезистентности при радиационном излучении экспрессию генов *DAAM1*, *IFNAR2*, *PALLD*.

**Ключевые слова:** злокачественная опухоль; экспрессия генов; радиорезистентность раковых клеток; радиационное излучение; метод OncoFinder.

**Как цитировать:** Glushchenko E.S., Slesarvev S.M., Moskovkin A.A., Plotcev V.M., Saenko Y.V. Differential gene expression and activation of signaling pathways in radioresistant and radiosensitive cancer cell lines. *Sovremennyye tehnologii v medicine* 2016; 8(2): 14–21, <http://dx.doi.org/10.17691/stm2016.8.2.02>.

## English

## Differential Gene Expression and Activation of Signaling Pathways in Radioresistant and Radiosensitive Cancer Cell Lines

**E.S. Glushchenko**, Junior Researcher, Laboratory of Molecular and Cellular Biology, Research Technological Institute named after S.P. Kapitsa;

**Для контактов:** Глущенко Евгения Сергеевна, e-mail: JaneG1411@yandex.ru

**S.M. Slesarvev**, DSc, Professor, Head of the Department of Biology, Ecology and Environmental Sciences;  
**A.A. Moskovkin**, PhD, Head of the Laboratory of Radiobiology, Department of Radiation Technologies;  
**V.M. Plotcev**, PhD, Associate Professor, Department of Radiation Technologies;  
**Y.V. Saenko**, DSc, Head of the Laboratory of Molecular and Cellular Biology,  
 Research Technological Institute named after S.P. Kapitsa

Ulyanovsk State University, 42 L. Tolstogo St., Ulyanovsk, 432017, Russian Federation

**The aim of the investigation** was to study differential gene expression and signaling pathways activation in radioresistant and radiosensitive cancer cell lines.

**Materials and Methods.** K562 radioresistant cancer cell line of chronic myeloleukosis, and HCT-116p53 (+/+), HCT-116p53 (-/-), Me45 radiosensitive cancer cell lines were used in the study. Transcriptome analysis was performed using Affymetrix DNA microarray HGU133A series. Original Gene Selector program was used for bioinformation analysis. Protein interaction networks were studied by means of online STRING 9.0 system. To range the genes according to the signaling pathways the PANTHER program and Qiagen SABiosciences database were used. Quantitative activation of signaling pathways was calculated with the help of OncoFinder bioinformation algorithm.

**Results.** Four genes (*DAAM1*, *IFNAR2*, *PALLD*, *STK17A*) were identified to increase their expression in radioresistant cell line and to decrease it in radiosensitive cell lines under radiation exposure. Three signal pathways — Wnt, Interferon and p53 — in which these genes are involved and which are common to the examined cell lines were found using PANTHER program. A significant difference in activation of these signaling pathways was discovered in radioresistant and radiosensitive cell lines.

**Conclusion.** Based on the analysis of molecular interaction networks and signaling pathway activation it has been revealed that the greatest differences between radioresistant and radiosensitive cell lines are observed in the activity of Interferon and p53 signaling pathways. *TP53* gene expression level is not associated with the activity of p53 signaling pathway. Comparison of gene expression changes and activation of signaling pathways allows us to suggest the expression of *DAAM1*, *IFNAR2*, *PALLD* genes as indicators of radioresistance under radiation exposure.

**Key words:** malignant tumors; gene expression; cancer cell radioresistance; radiation; OncoFinder method.

Устойчивость злокачественных опухолей к лучевой терапии остается одной из важных проблем, которая стоит перед клинической и экспериментальной онкологией. В дополнение к тому, что некоторым опухолевым клеткам изначально свойственна пониженная чувствительность к ионизирующему излучению, они также могут приобретать ее в процессе терапии [1]. Данный факт объясняется тем, что после лучевого воздействия раковые клетки способны переживать повреждение ДНК [2]. Это приводит к увеличению их выживаемости, что служит причиной бесконечного роста раковой опухоли и клинического прогрессирования заболевания. Кроме того, ситуацию осложняет генетическая нестабильность опухолевых клеток, для которой характерен высокий уровень спонтанных мутаций. Таким образом, дальнейшее проведение радиотерапии не только не вызывает улучшение состояния больных злокачественными новообразованиями, но и способно привести к тяжелым последствиям, увеличивая негативное влияние на общее состояние пациента и его качество жизни. Данная ситуация обуславливает поиск новых путей для совершенствования радиационной терапии — преодоления радиорезистентности раковых клеток.

Радиорезистентность раковых клеток главным образом зависит от правильности функционирования внутриклеточных сигнальных путей [3]. Изменение одного компонента сигнального пути, например сверхэкспрессия гена, способно нарушить функциони-

рование всей системы клетки. Например, рецептор ErbB-2, входящий в семейство рецептора эпидермального фактора роста EGFR, является одним из рецепторов, которые наиболее часто экспрессируются на поверхности раковых клеток эпителия бронхов. Для гена *EGFR* рецептор ErbB-2 выступает в качестве корецептора в момент формирования димерного комплекса и впоследствии аутофосфорилирования, но лиганд для него еще не определен [4]. Обнаружено, что в злокачественных новообразованиях человека для гена *EGFR* характерна сверхэкспрессия. Как отмечается в разных исследованиях [5–7], существует связь между экспрессией гена *EGFR* и устойчивостью раковых клеток к радиотерапии. В работах [5–7] показано, что раковые клетки предстательной железы (DU145 и PC-3) экспрессируют ген *EGFR*. Кроме того, в преклинических исследованиях найдена взаимосвязь экспрессии гена *EGFR* с пролиферацией, ангиогенезом, миграцией опухолевых клеток и с радиорезистентностью опухоли [8, 9]. Информация об активации сигнальных путей и их компонентов в ответ на радиотерапию позволит прогнозировать исходы лечения онкологических заболеваний и получить метод подавления механизмов радиорезистентности раковых клеток. Наиболее полную картину о механизмах активации внутриклеточных сигнальных путей дают методы полнотранскриптомного анализа [10]. В настоящей работе использовали транскриптомный анализ радиорезистентных и радиочувствительных клеточных линий с целью выявления дифференциально-экспрессиру-

щихся генов и исследования дифференциальной активности сигнальных путей.

**Цель исследования** — изучить дифференциальную экспрессию генов и активацию сигнальных путей в радиорезистентных и радиочувствительных раковых клеточных линиях.

#### Материалы и методы

**Клеточные культуры.** В экспериментах использовали: радиорезистентную суспензионную линию человеческих эритролейкемических лимфобластодных клеток K562; радиочувствительную клеточную линию рака прямой кишки человека HCT-116p53 (+/+) с нормальным геном TP53; радиочувствительную клеточную линию рака прямой кишки человека HCT-116p53 (-/-) с мутантным геном TP53; радиочувствительную клеточную линию меланомы человека ME45. Клеточные линии получены из American Type Culture Collection (ATCC).

Клетки культивировали при стандартных условиях: в CO<sub>2</sub>-инкубаторе MCO-18AIC CO<sub>2</sub> (Helicon, Япония) при температуре 37°C, в атмосфере 5% CO<sub>2</sub> и 98% влажности. Для культивирования клеточной линии K562 использовали среду RPMI-1640, которая содержит L-глутамин с 10% эмбриональной бычьей сыворотки и 5 мкг/мл гентамицина. Для культивирования клеточных линий HCT-116p53 (+/+), HCT-116p53 (-/-), Me45 использовали среду DMEM/F12, которая также содержит L-глутамин с 10% эмбриональной бычьей сыворотки и 5 мкг/мл гентамицина.

**Дизайн эксперимента.** Облучение клеточных линий производилось в логарифмической фазе роста. Клетки однократно облучали рентгеновским излучением, генерируемым терапевтическим акселератором Clinac 600 (Varian Medical Systems, США) при комнатной температуре, в дозе 4 Гр [11, 12]. Мощность дозы излучения составляла 0,03 Гр/с при фокусном расстоянии 104 см. Высота водяного столба над клетками составляла 1 см. Клетки облучались в 24-луночных планшетах (объем лунки — 2,5 мл). Анализ экспрессии генов выполняли через 1, 12 и 24 ч после облучения.

**Анализ экспрессии генов.** РНК выделяли из 3·10<sup>6</sup> клеток с использованием набора для выделения РНК в соответствии с инструкцией производителя. Целостность выделенной РНК проверяли с помощью биоанализатора Agilent 2100 (Agilent Technologies, США). Библиотеку клонированных ДНК готовили с использованием набора GeneChip Expression

3'-Amplification One-Cycle cDNA Synthesis Kit (Affymetrix, США). Мечение биотином антисмысловых библиотек клонированных РНК (кРНК) и очистка были проведены с использованием набора GeneChip Expression 3'-Amplification Reagents for IVT Labeling в соответствии с протоколом производителя. Количество полученных РНК и ДНК оценивали с помощью спектрофотометра NanoDrop (Thermo Scientific, США). Фрагментацию кРНК проводили при 94°C в термоциклере в течение 35 мин. Синтезированные биотинилированные кРНК вначале гибридизировали с контрольной матрицей Test-3 с целью оценки качества полученных кРНК. Если это качество соответствовало расчетному, тогда проводили гибридизацию с матрицей HGU133A. Матрицу окрашивали стрептовидин-фикоэритрином. Окрашенную матрицу отмывали от несвязавшегося белка и сканировали на сканере GeneArray G2500A (Hewlett Packard, США).

**Биоинформационный анализ.** Отбор генов, чья экспрессия изменялась по отношению к контролю на протяжении всего эксперимента, и поиск общих генов в радиорезистентной и радиочувствительной клеточных линиях проводили с использованием оригинальной программы Gene Selector (программу можно получить у авторов статьи), достоверность отличий задавалась на уровне  $p \leq 0,05$ .

Сеть молекулярных взаимодействий строилась с помощью онлайн-системы STRING (Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins). Данные предоставляются на основе четырех источников: Genomic Context, High-throughput Experiments, (Conserved) Coexpression, Previous Knowledge.

Определение сигнальных путей, к которым относятся отобранные гены, проводилось с использованием программы PANTHER и базы данных QIAGEN SABiosciences.

Количественную активацию сигнальных путей, на которую оказывают влияние отобранные гены, рассчитывали с помощью методики OncoFinder [13]. Степень активации сигнальных путей измеряли в условных единицах.

**Результаты.** В результате проведения статистической обработки данных экспрессии генов в клеточной линии K562 отобрано 109 генов, у которых экспрессия увеличивалась на протяжении всего эксперимента (см. таблицу).

В радиочувствительных раковых клеточных линиях

#### Гены, отобранные по заданным критериям в четырех раковых клеточных линиях

Раковая клеточная линия	Количество генов, экспрессия которых увеличивалась на протяжении всего эксперимента ( $p \leq 0,05$ )	Количество генов, экспрессия которых уменьшалась на протяжении всего эксперимента ( $p \leq 0,05$ )
K562	109	—
HCT-116p53 (+/+)	—	231
HCT-116p53 (-/-)	—	231
Me45	—	63

с нормальным геном *TP53* НСТ-116р53 (+/+) и мутантным геном *TP53* НСТ-116р53 (-/-) выделили по 231 гену, а в раковой клеточной линии Me45 — 63 гена, чья экспрессия снижалась после 1, 12 и 24 ч эксперимента.

Программа автоматического подбора генов с заданным уровнем достоверности и экспрессии Gene Selector отобрала для используемых раковых клеточных линий четыре общих гена: *DAAM1*, *IFNAR2*, *PALLD*, *STK17A*, экспрессия которых увеличивается в радиорезистентной клеточной линии и снижается — в радиочувствительных.

Отобранные гены загружались в онлайн-систему STRING для выявления сетей молекулярных взаимодействий (рис. 1).

Установлено, что ген *DAAM1* непосредственно взаимодействует с генами *FNBP1*, *TRIP10*, *ARHGAP1*, *DVL1*, *DVL2*, *DVL3*, *PTBP2*, *RHOA*, *SRRM4*, через которые осуществляется связь с генами *ARHGDI*,

*BAIAP2*, *CDC42*, *PAK1*, *PAK2*, *PARD6A*, *PTBP2*, *TNK2*, *TRIP10*, *WAS*, *WASL*. Ген *IFNAR2* взаимодействует с генами *TYK2*, *GNB2L1*, *IFNA8*, *STAT1*, *IFNW1*, *STAT2*, *JAK1*, *IFNAR1*, *JAK2*, *STAT3*, *IFNA5*, через которые он оказывает влияние на гены *IL2RB*, *IRS1*, *EGFR*, *IFNGR1*, *IRF1*, *EP300*, *CREBBP*, *IRF9*. Ген *PALLD* взаимодействует с генами *TGFB1*, *EPS8*, *AKT1*, *ACTN1*, *LPP*, *ACTN2*, *SRC*, *EZR*. При изучении влияния гена *STK17A* обнаружена сеть молекулярных взаимодействий, где он не оказывает прямого влияния на другие гены. Данный факт можно объяснить тем, что этот ген недостаточно изучен и программа STRING содержит мало информации о его функциональной связи с другими генами.

Экспрессия отдельных генов склонна к очень широким колебаниям и не всегда может являться признаком патологического процесса в отличие от активности целого сигнального пути. Поэтому отобранные гены *DAAM1*, *IFNAR2*, *PALLD* загружались в базу

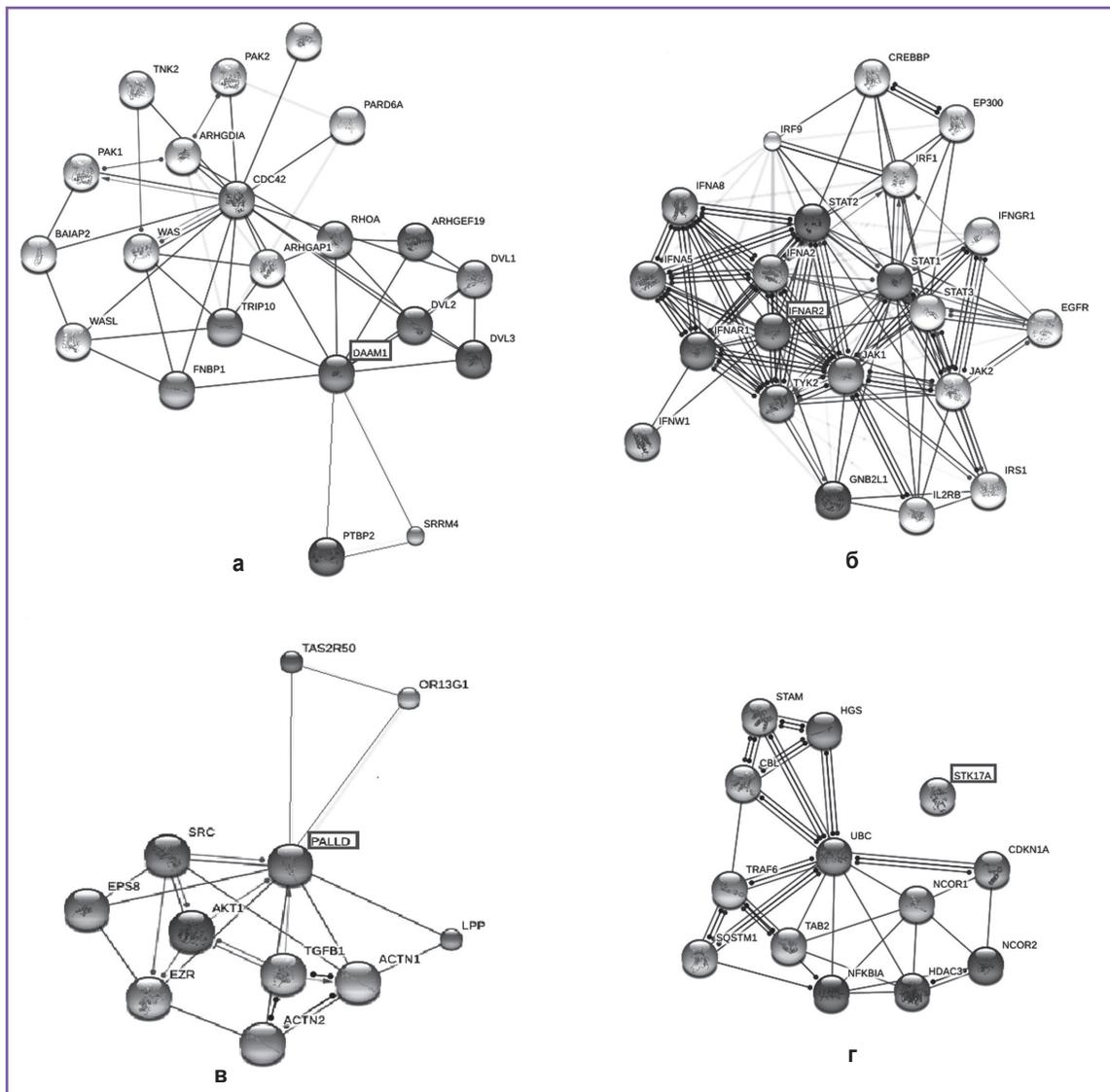
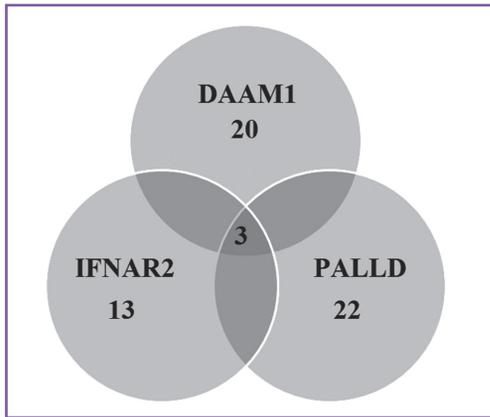


Рис. 1. Сети молекулярных взаимодействий генов *DAAM1* (а), *IFNAR2* (б), *PALLD* (в), *STK17A* (г)

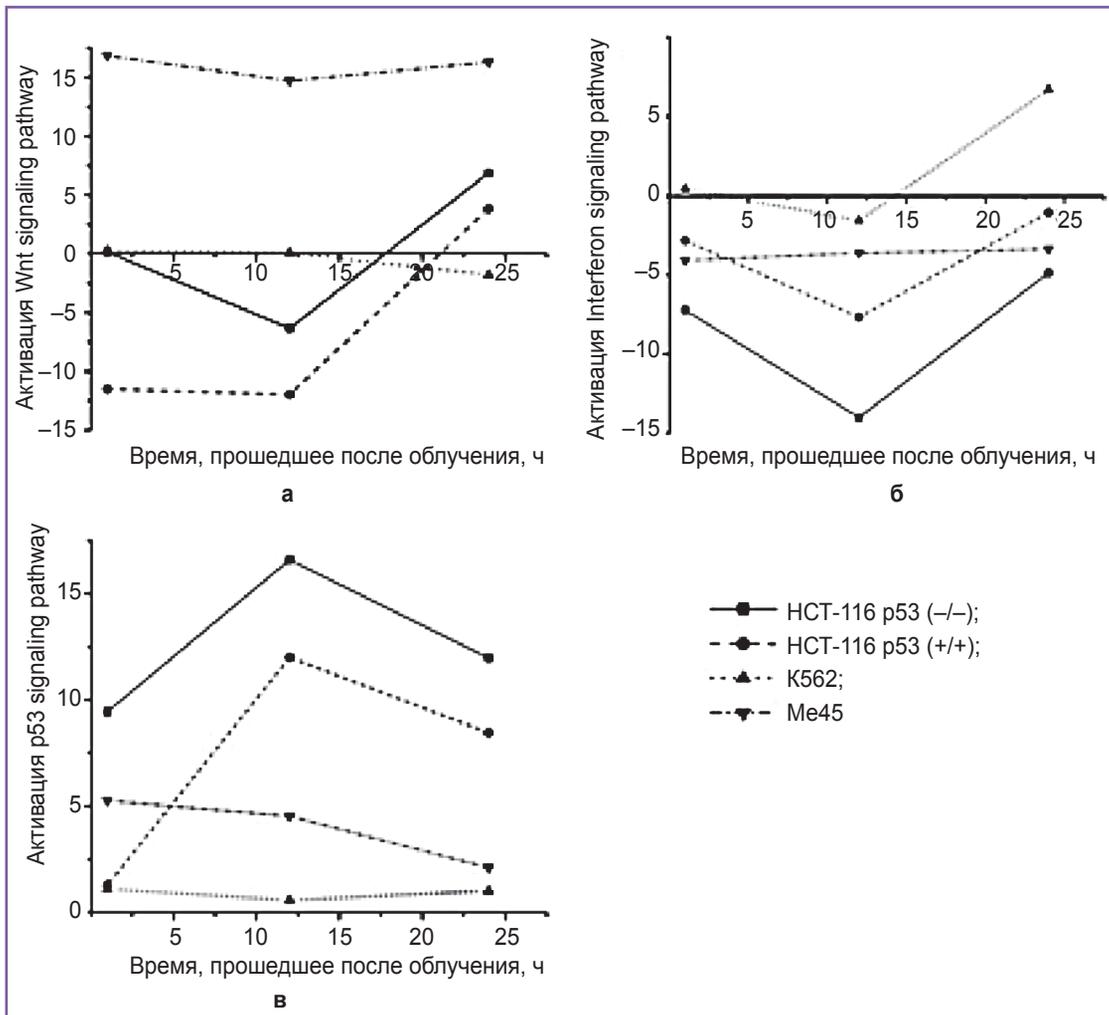


**Рис. 2.** Количество сигнальных путей, на которые оказывает влияние функционирование генов *DAAM1*, *IFNAR2*, *PALLD* в четырех раковых клеточных линиях (K562, НСТ-116р53 (+/+), НСТ-116р53 (-/-), Ме45)

данных PANTHER, которая содержала информацию о том, в каких внутриклеточных сигнальных путях они функционируют (рис. 2).

На основе полученной информации были найдены три сигнальных пути (см. рис. 2), которые являются общими для радиорезистентной и радиочувствительных раковых клеточных линий: Wnt signaling pathway, Interferon signaling pathway, p53 signaling pathway. С помощью метода OncoFinder была рассчитана их активация в клеточных линиях, на которые непосредственно влияют гены *DAAM1*, *IFNAR2*, *PALLD* и *STK17A* (рис. 3).

На графиках, отражающих влияние ионизирующего излучения в дозе 4 Гр на активацию сигнального пути Wnt signaling pathway в четырех раковых клеточных линиях (рис. 3, а), видно, что активация в линиях НСТ-116р53 (+/+), НСТ-116р53 (-/-) и Ме45 до 12 ч снижается, а после наблюдается ее рост. В линиях



**Рис. 3.** Активация сигнальных путей в четырех раковых клеточных линиях (K562, НСТ-116р53 (+/+), НСТ-116р53 (-/-), Ме45) через 1, 12 и 24 ч с момента облучения: а — активация Wnt signaling pathway; б — активация Interferon signaling pathway; в — активация p53 signaling pathway. Количественная активация является безразмерной и вычисляется с использованием метода OncoFinder, в котором учитывается отношение экспрессии генов исследуемого образца к контрольному образцу

НСТ-116p53 (+/+) и НСТ-116p53 (-/-) значения активации после 24 ч значительно ниже, чем в линии Me45. В радиорезистентной раковой клеточной линии K562 активация этого сигнального пути снижается на протяжении всего эксперимента.

Графики, отражающие влияние ионизирующего излучения в дозе 4 Гр на активацию Interferon signaling pathway (рис. 3, б), показывают, что, несмотря на схожий характер активации в клеточных линиях K562, НСТ-116p53 (-/-), НСТ-116p53 (+/+), ее значения в этих линиях заметно отличаются.

Наибольшего значения активация Interferon signaling pathway достигает в радиорезистентной раковой клеточной линии после 24 ч, а в радиочувствительных клеточных линиях относительно низкие ее значения сохраняются до конца эксперимента.

Как видно из рисунка, активация пути p53 signaling pathway в радиорезистентной и радиочувствительных клеточных линиях также отличается (рис. 3, в). В НСТ-116p53 (+/+) и НСТ-116p53 (-/-) она достигает своего максимального значения после 12 ч с начала эксперимента, а к 24 ч наблюдается ее спад. В клеточных линиях K562 и Me45 активация одинаково снижается, но после 12 ч в K562 она начинает расти, тогда как в Me45, напротив, продолжает снижаться.

**Обсуждение.** Важную роль в формировании ответа опухолевых клеток на ионизирующее облучение играют внутриклеточные сигнальные пути, которые включают в себя большое количество белков, например p53, фосфолипазу  $\delta 1$ , протеинкиназу C, кластерин и др. [14]. Однако не существует общего мнения о том, какие именно сигнальные пути участвуют в формировании низкой радиочувствительности раковых клеток. Наши исследования показали, что гены *DAAM1*, *IFNAR2*, *PALLD*, *STK17A* радиорезистентной клеточной линии K562 характеризуются избыточной экспрессией в отличие от генов радиочувствительных клеточных линий. Ген *DAAM1* входит в семейство белков формин. Его функция заключается в регуляции роста клеток, а также он участвует в образовании и удлинении новых нитей актина. Ранее уже было показано [15], что некоторые актинсвязывающие белки, например кофилин-1 (CFL1), значительно активируются в радиорезистентной астроцитоме.

Ген *IFNAR2* стимулирует связывание и активацию рецептора Janus протеинкиназ, который фосфорилирует несколько белков (например, STAT и STAT1). Сигнальные пути фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K), протеинкиназы B (Akt), янус-киназы (JAK), активатор транскрипции (STAT) способны блокировать апоптоз, что делает опухолевые клетки устойчивыми к радиотерапии [16, 17]. S.O. Rahaman с соавт. в своих исследованиях продемонстрировали, что ингибирование сигнального пути STAT3 приводит к усиленному апоптозу и ингибированию пролиферации в злокачественной глиоме [18].

Ген *PALLD* принимает участие в организации цитоскелета клетки, играет важную роль в формировании

морфологии, подвижности и адгезии клеток. Адгезия с внеклеточным матриксом в нормальных и опухолевых клеточных линиях способствует формированию устойчивости к ионизирующему излучению [19–21].

Ген *STK17A* входит в состав DAP-киназ и индуцирует апоптоз. Выступает в качестве регулятора активных форм кислорода в клетке, увеличение которых способно привести к адаптивным изменениям и может играть центральную роль в формировании радиорезистентности опухолевых клеток [22].

Таким образом, гены *DAAM1*, *IFNAR2*, *PALLD* и *STK17A* вовлечены в процесс формирования радиорезистентности и могут быть использованы в качестве мишеней для повышения радиочувствительности опухолевых клеток.

Все указанные гены в радиорезистентной клеточной линии характеризуются сверхэкспрессией. Но в формировании резистентности необходимо учитывать не только экспрессию отдельных генов, но и активацию сигнальных путей, участниками которых они являются. Мы определили общие сигнальные пути для клеточных линий K562, НСТ-116p53 (+/+), НСТ-116p53 (-/-), Me45, в которых принимают участие гены *DAAM1*, *IFNAR2*, *PALLD* и *STK17A* (см. рис. 2).

В радиорезистентной клеточной линии K562 активация сигнальных путей Wnt signaling pathway, Interferon signaling pathway и p53 signaling pathway значительно отличалась от их активации в радиочувствительных клеточных линиях (см. рис. 3, б).

Ранее было продемонстрировано [23], что Interferon signaling pathway активирован в радиорезистентных раковых клетках. Ключевым белком этого сигнального пути является белок, кодируемый геном *STAT1*. Белок *IFNAR2* физически взаимодействует с белком *STAT1*. J.F. Zhan с соавт. показали, что сверхэкспрессия *STAT1* способствует формированию радиорезистентности клеток рака молочной железы [24]. M. Fryknäs с соавт. доказали, что клетки миеломы с гиперэкспрессией *STAT1* более радиорезистентны, чем клетки с низким уровнем экспрессии этого белка [25]. В наших экспериментах увеличение экспрессии гена *STAT1* наблюдалось во всех клеточных линиях на протяжении всего эксперимента, тогда как сверхэкспрессия гена *IFNAR2* на протяжении всего эксперимента отмечалась только в радиорезистентной клеточной линии K562. Таким образом, экспрессия гена *IFNAR2* может служить показателем радиорезистентности.

Многие злокачественные опухоли человека содержат мутации в гене *p53*, и большинство из них имеют генетические повреждения в сигнальном пути p53 signaling pathway [26]. Например, увеальная меланома иногда имеет мутации в гене *p53*, которые препятствуют нормальному функционированию p53 signaling pathway [27–29]. В связи с этим увеальная меланома способна приобретать низкую радиочувствительность. В наших экспериментах мы использовали две клеточные линии с мутантным геном *TP53*: это радиочувствительная клеточная линия

НСТ-116p53 (–/–) и радиорезистентная клеточная линия K562. В обеих линиях белок p53 не активен. Несмотря на это, активация сигнального пути p53 signaling pathway в этих клеточных линиях различна. В линии K562 радиационное облучение не влияет на активность этого пути на всем протяжении эксперимента (см. рис. 3, в). В радиочувствительной клеточной линии НСТ-116p53 (–/–) активность p53 signaling pathway через 1 ч остается неизменной, а через 12 и 24 ч увеличивается, хотя сохраняется на несколько более низком уровне, чем в изогенной клеточной линии НСТ-116p53 (+/+) с геном *TP53* дикого типа. Данные наших экспериментов демонстрируют, что величина экспрессии гена *TP53* не связана с активностью сигнального пути p53 signaling pathway.

**Заключение.** Впервые продемонстрировано, что гены *DAAM1*, *IFNAR2*, *PALLD* и *STK17A* связаны с феноменом радиорезистентности раковых клеток. Наибольшие отличия между радиорезистентной и радиочувствительными клеточными линиями наблюдаются в активности сигнальных путей Interferon signaling pathway и p53 signaling pathway. Величина экспрессии гена *TP53* не связана с активностью сигнального пути p53 signaling pathway.

**Финансирование исследования.** Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках государственного задания 6.1617.2014/К и конкурса «Участник молодежного научно-инновационного конкурса» («УМНИК») №2994ГУ1/2014.

**Конфликт интересов.** У авторов нет конфликта интересов.

## Литература/References

1. Зинченко В.А., Чащина Л.И. Возможные механизмы устойчивости опухолевых клеток к лучевой и химиотерапии. *Biopolym Cell* 2005; 21(6): 473–484. Zinchenko V.A., Chaschina L.I. Possible mechanisms of the stability of tumor cells to radial and chemotherapy. *Biopolym Cell* 2005; 21(6): 473–484.
2. Tang H.L., Tang H.M., Mak K.H., Hu S., Wang S.S., Wong K.M., Wong C.S., Wu H.Y., Law H.T., Liu K., Talbot C.C. Jr., Lau W.K., Montell D.J., Fung M.C. Cell survival, DNA damage, and oncogenic transformation after a transient and reversible apoptotic response. *Mol Biol Cell* 2012; 23(12): 2240–2252, <http://dx.doi.org/10.1091/mbc.E11-11-0926>.
3. Panganiban R.-A.M., Snow A.L., Day R.M. Mechanisms of radiation toxicity in transformed and non-transformed cells. *Int J Mol Sci* 2013; 14(8): 15931–15958, <http://dx.doi.org/10.3390/ijms140815931>.
4. Тихомирова А.В., Ягудина Р.И. Фармакоэкономический анализ прямых медицинских затрат при лечении метастатического колоректального рака режимами XELOX или FOLFOX4 в сочетании с бевацизумабом или без него в качестве терапии первой линии. *Фармакоэкономика* 2010; 2: 22–27. Tikhomirova A.V., Yagudina R.I. Pharmacoeconomic analysis of direct medical costs of metastatic colorectal cancer as the 1st line treatment regimes XELOX or FOLFOX4 and XELOX + BV or FOLFOX + BV. *Farmakoeconomika* 2010; 2: 22–27.

5. Chinnaiyan P., Varambally S., Tomlins S.A., Ray S., Huang S., Chinnaiyan A.M., Harari P.M. Enhancing the antitumor activity of ErbB blockade with histone deacetylase (HDAC) inhibition. *Int J Cancer* 2006; 118(4): 1041–1050, <http://dx.doi.org/10.1002/ijc.21465>.
6. Corvò R., Pastrone I., Scolaro T., Marcenaro M., Berretta L., Chiara S. Radiotherapy and oral capecitabine in the preoperative treatment of patients with rectal cancer: rationale, preliminary results and perspectives. *Tumor* 2003; 89(4): 361–367.
7. El Sheikh S.S., Domin J., Abel P., Stamp G., Lalani El-N. Phosphorylation of both EGFR and ErbB2 is a reliable predictor of prostate cancer cell proliferation in response to EGF. *Neoplasia* 2004; 6(6): 846–853, <http://dx.doi.org/10.1593/neo.04379>.
8. Milas L., Fan Z., Andratschke N.H., Ang K.K. Epidermal growth factor receptor and tumor response to radiation: in vivo preclinical studies. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004; 58(3): 966–971, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijrobp.2003.08.035>.
9. Nasu S., Ang K.K., Fan Z., Milas L. C225 antiepidermal growth factor receptor antibody enhances tumor radiocurability. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2001; 51(2): 474–477, [http://dx.doi.org/10.1016/S0360-3016\(01\)01671-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0360-3016(01)01671-6).
10. Lezhnina K., Kovalchuk O., Zhavoronkov A.A., Korzinkin M.B., Zabolotneva A.A., Shegay P.V., Sokov D.G., Gaifullin N.M., Rusakov I.G., Aliper A.M., Roumiantsev S.A., Alekseev B.Y., Borisov N.M., Buzdin A.A. Novel robust biomarkers for human bladder cancer based on activation of intracellular signaling pathways. *Oncotarget* 2014; 5(19): 9022–9032, <http://dx.doi.org/10.18632/oncotarget.2493>.
11. Saenko Y.V., Shutov A.M., Rastorgueva E.V., Maslakova A.G. The role of mitochondria in the development of radiation-induced oxidative stress in K562 leukemia cells. *Bull Exp Biol Med* 2013; 154(5): 631–634, <http://dx.doi.org/10.1007/s10517-013-2017-4>.
12. Spary L.K., Al-Taei S., Salimu J., Cook A.D., Ager A., Watson H.A., Clayton A., Staffurth J., Mason M.D., Tabi Z. Enhancement of T cell responses as a result of synergy between lower doses of radiation and T cell stimulation. *J Immunol* 2014; 192(7): 3101–3110, <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.1302736>.
13. Buzdin A.A., Zhavoronkov A.A., Korzinkin M.B., Venkova L.S., Zenin A.A., Smirnov P.Y., Borisov N.M. OncoFinder, a new method for the analysis of intracellular signaling pathway activation using transcriptomic data. *Front Genet* 2014; 5: 55, <http://dx.doi.org/10.3389/fgene.2014.00055>.
14. Matsumoto H., Hamada N., Takahashi A., Kobayashi Y., Ohnishi T. Vanguard of paradigm shift in radiation biology: radiation-induced adaptive and bystander responses. *J Radiat Res* 2007; 48(2): 97–106, <http://dx.doi.org/10.1269/jrr.06090>.
15. Yan H., Yang K., Xiao H., Zou Y.J., Zhang W.B., Liu H.Y. Over-expression of cofilin-1 and phosphoglycerate kinase 1 in astrocytomas involved in pathogenesis of radioresistance. *CNS Neurosci Ther* 2012; 18(9): 729–736, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1755-5949.2012.00353.x>.
16. Toker A., Yoeli-Lerner M. Akt signaling and cancer: surviving but not moving on. *Cancer Res* 2006; 66(8): 3963–3966, <http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-06-0743>.
17. Hodge D.R., Hurt E.M., Farrar W.L. The role of IL-6 and STAT3 in inflammation and cancer. *Eur J Cancer* 2005; 41(16): 2502–2512, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejca.2005.08.016>.

18. Rahaman S.O., Harbor P.C., Chernova O., Barnett G.H., Vogelbaum M.A., Haque S.J. Inhibition of constitutively active STAT3 suppresses proliferation and induces apoptosis in glioblastoma multiforme cells. *Oncogene* 2002; 21(55): 8404–8413, <http://dx.doi.org/10.1038/sj.onc.1206047>.
19. Hehlgans S., Haase M., Cordes N. Signalling via integrins: implications for cell survival and anticancer strategies. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1775(1): 163–180, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbcan.2006.09.001>.
20. Eke I., Sandfort V., Storch K., Baumann M., Röper B., Cordes N. Pharmacological inhibition of EGFR tyrosine kinase affects ILK-mediated cellular radiosensitization in vitro. *Int J Radiat Biol* 2007; 83(11–12): 793–802, <http://dx.doi.org/10.1080/09553000701727549>.
21. Park C.C., Zhang H., Pallavicini M., Gray J.W., Baehner F., Park C.J., Bissell M.J. Beta1 integrin inhibitory antibody induces apoptosis of breast cancer cells, inhibits growth, and distinguishes malignant from normal phenotype in three dimensional cultures and in vivo. *Cancer Res* 2006; 66(3): 1526–1535, <http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-3071>.
22. Shi X., Zhang Y., Zheng J., Pan J. Reactive oxygen species in cancer stem cells. *Antioxid Redox Signal* 2012; 16(11): 1215–1228, <http://dx.doi.org/10.1089/ars.2012.4529>.
23. Woodward W.A., Chen M.S., Behbod F., Alfaro M.P., Buchholz T.A., Rosen J.M. WNT/beta — catenin mediates radiation resistance of mouse mammary progenitor cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104(2): 618–623, <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0606599104>.
24. Zhan J.F., Chen L.H., Yuan Y.W., Xie G.Z., Sun A.M., Liu Y., Chen Z.X. STAT1 promotes radioresistance of CD44(+)/CD24(–/low) cells in breast cancer. *Exp Biol Med (Maywood)* 2011; 236(4): 418–22, <http://dx.doi.org/10.1258/ebm.2011.010287>.
25. Fryknäs M., Dhar S., Oberg F., Rickardson L., Rydåker M., Göransson H., Gustafsson M., Pettersson U., Nygren P., Larsson R., Isaksson A. STAT1 signaling is associated with acquired crossresistance to doxorubicin and radiation in myeloma cell lines. *Int J Cancer* 2007; 120(1): 189–195, <http://dx.doi.org/10.1002/ijc.22291>.
26. Sherr C.J. Principles of tumor suppression. *Cell* 2004; 116(2): 235–246, [http://dx.doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)01075-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0092-8674(03)01075-4).
27. Likhvantseva V.G. Prospects for developing treatment of uveal melanoma from the position of modern carcinogenesis concepts. *Vestn Oftalmol* 2002; 118(1): 32–35.
28. Hussein M.R., Haemel A.K., Wood G.S. p53-related pathways and the molecular pathogenesis of melanoma. *Eur J Cancer Prev* 2003; 12(2): 93–100, <http://dx.doi.org/10.1097/00008469-200304000-00002>.
29. Hussein M.R. The relationships between p53 protein expression and the clinicopathological features in the uveal melanomas. *Cancer Biol Ther* 2005; 4(1): 57–59, <http://dx.doi.org/10.4161/cbt.4.1.1480>.