

РОЛЬ ЗМІН РЕГУЛЯЦІЇ p53 /MDM2 ШЛЯХУ В ПРОГРЕСУВАННІ НЕЙРОБЛАСТОМИ



Н.М. Храновська, М.В. Іномістова,
Н.М. Свєргун, О.В. Скачкова,
Г.І. Климнюк

Адреса:

Храновська Наталія Миколаївна
Київ, 03022, вул. Ломоносова, 33/43
Національний інститут раку
E-mail: nkhranovska@ukr.net

18

Нейробластома (НБ) — злоякісне новоутворення симпатичної нервової системи, що характеризується значною клінічною гетерогенністю. Незважаючи на наявність усталених прогностичних факторів НБ, пошук нових, більш специфічних генетичних маркерів залишається актуальним. На сьогодні активно досліджують роль p53/MDM2 сигнального шляху в патогенезі НБ. Як відомо, інактивація p53 сприяє пухлинному прогресуванню та проліферації клітин із різноманітними генетичними аномаліями. При НБ ген TP53 зазвичай залишається незмінним, але функція p53 може пригнічуватися за рахунок порушення діяльності його регуляторів. Дослідження механізмів генетичної та епігенетичної регуляції p53/MDM2 шляху відкриває можливості створення таргетної терапії, спрямованої на реактивацію p53, що є перспективним підходом до лікування хворих на НБ.

Нейробластома (НБ) — злоякісне новоутворення симпатичної нервової системи, що походить з клітин нервового гребеня і є найбільш поширеною екстракраніальною солідною пухлиною дитячого віку. НБ характеризується значною клінічною гетерогенністю, що відображає складність генетичних та геномних перебудов і біологічних особливостей, які притаманні цьому захворюванню [1].

На відміну від інших ембріональних пухлин, таких як гепатобластома, нефробластома, ембріональна рабдоміосаркома, для НБ характерні кілька специфічних особливостей. Перша — здатність до спонтанної регресії. У клінічній практиці відомі випадки (близько 2%) спонтанної диференціації та регресії НБ у дітей грудного віку, навіть при IV стадії з наявністю метастазів. Разом з тим нині не визначено показники, які є ключовим сигналом переходу від прогресування до регресії неопластичного процесу. Іншою особливістю НБ є здатність до дедиференціювання. Індукувати процес диференціації *in vitro* можуть різні речовини, наприклад ретиноева кислота, деякі цитостатики, папаверин та ін. І, нарешті, третьою важливою специфічною ознакою є здатність до бурхливого агресивного розвитку і метастазування. У 75% хворих дітей віком понад 1 рік виявляють дисеміновані метастази у кістковому мозку, кістках, лімфатичних вузлах [2].

Застосування сучасних протоколів лікування, в тому числі високодозової хімотерапії з трансплантацією аутологічних стовбурових клітин, променевої терапії та хірургічного лікування дозволяє досягати ремісії приблизно у 80% пацієнтів групи високого ризику [3]. Розподіл пацієнтів за групами ризику є необхідним для вибору тактики лікування та прогнозування перебігу за-

хворювання. Наявність чітких клінічних характеристик та біологічних маркерів дозволяє виокремити пацієнтів групи високого ступеня ризику.

У клінічній практиці впродовж багатьох років використовують клінічну класифікацію Evans [4], яку у 1993 р. видозмінено у систему міжнародної класифікації НБ за стадіями захворювання (International Neuroblastoma Staging System — INSS). Згідно з INSS, при виборі тактики лікування хворих на НБ основними критеріями є стадія захворювання, гістологічний субтип та розмір пухлини, її локалізація, вік дитини. Незважаючи на визначені класифікацією прогностичні фактори, питання стратифікації пацієнтів за групами ризику все ще залишалось відкритим [5].

У 2005 р. під час зустрічі керівників провідних педіатричних груп на основі класифікації INSS, за даними клінічних досліджень 8800 пацієнтів, що лікувалися в Європі, Японії, США, Канаді та Австралії з 1990 по 2002 р., запропоновано нову систему стадіювання International Neuroblastoma Risk Group (INRG) — L1, L2, M, MS. У 2009 р. INRG визначила сім параметрів (стадія, вік, гістологічна категорія, рівень диференціювання пухлини, статус онкогена MYCN, стан хромосомної ділянки 11q і плоідність ДНК), необхідних для стратифікації пацієнтів відповідно до груп ризику вже на етапі первинної діагностики: групи дуже низького, низького, проміжного та високого ступеня ризику. Ця система перебуває на стадії удосконалення та потребує включення нових індивідуальних біологічних ознак пухлинних клітин [6].

Описано варіації плоідності при НБ: близькотриплоїдні пухлини пов'язують зі сприятливим прогнозом, а диплоїдні/тетраплоїдні корелюють із несприятливим. Також виявлено низку сегментних

Ключові слова: нейробластома, p53/MDM2 шлях, мікроРНК.

хромосомних аберацій, у тому числі делеції хромосомних ділянок 1p, 3p, 4p і 11q, що містять гени-онкосупресори, та приріст хромосомних ділянок 1q, 2p і 17q, що можуть містити онкогени. Велика кількість цих сегментних перебудов має прогностичне значення [2, 7].

У пухлинах із множинними аберациями можуть виникати порушення мітотичної сегрегації хромосом. З іншого боку, сегментні хромосомні аберації в пухлинах високого та помірного ризику найбільш часто з'являються через незбалансовані хромосомні транслокації, які, в свою чергу, можуть походити з неправильно відрепарованих дволанцюгових розривів ДНК з умови існування порушень системи підтримки стабільності та цілісності геному [7].

НБ із агресивним перебігом характеризуються множинними сегментними аберациями хромосом та ампліфікацією окремих генів, зокрема гена *MYSN*. MNA (*MYSN* amplification) асоціюється зі швидким прогресуванням пухлин та несприятливим прогнозом перебігу захворювання у пацієнтів будь-якого віку та з НБ у будь-якій стадії. MNA зазвичай досягає 50–400 копій гена на клітину з відповідно високим рівнем його експресії, виникає в 25% первинних НБ і корелює з пізніми стадіями захворювання та резистентністю до лікування. MNA часто асоційована з ампліфікацією деяких інших генів, таких як *DDX1*, *NAG* та *ALK* [8].

Хоча статус гена *MYSN* є центральним стратифікаційним біологічним маркером для визначення групи ризику, важливо наголосити, що в більшості метастатичних НБ MNA не виявляється. Тому пошук нових прогностичних та стратифікаційних генетичних маркерів або їх комплексу триває і є актуальною проблемою дитячої онкології. Пошук нових генетичних маркерів має охоплювати множинні перебудови геному та епігенетичні порушення в пухлинній клітині, що пов'язані з патогенезом НБ [9].

Відіграючи ключову біологічну роль при НБ, надлишкова експресія *MYSN* у нервовому гребені сприяє розвитку нейробластичних пухлин у трансгенних мишей. Водночас інгібування *MYSN* призводить до загибелі, диференціації та/або погіршення росту клітин, а отже, можна припустити, що вимкнення цього гена в *MYSN*-залежних пухлинах може бути дуже ефективною стратегією лікування. На жаль, ефективні методи, що безпосередньо пригнічують *MYSN* у пацієнтів із НБ, ще не доступні. Тоді як багато робочих груп шукають стратегії, спрямовані власне проти *MYSN*-генів. Недавній відкриття дали можливість створення засобів таргетної терапії, що призводить до загибелі пухлинних клітин із MNA або сприяє регулюванню

протирадикальних сигнальних шляхів, які прямо активуються *MYSN*. У такому разі доцільно зосередити увагу на р53-залежному шляху апоптозу, одним із регуляторів активності якого є *MYSN* [10].

Білок р53 уперше виявлений в 1979 р. Спочатку його вважали онкогенним через його антигенну асоціацію з пухлинотрансформуючим вірусом SV40. Таким чином, протягом багатьох років його не визначали як ключовий регулятор зупинки клітинного циклу, репарації ДНК, старіння, аутофагії та апоптозу. Його роль як інгібітора росту пухлин була встановлена в 1989 р. Ген білка р53, *TP53*, клонували в 1983 р. Це стало поштовхом для відкриття, що мутація або делеція цього гена відбувається при понад половині всіх онкологічних захворювань. У 1990 р. порушення гена остаточно пов'язують із рідкісним сімейним синдромом Лі-Фраумені, асоційованим з різними видами раку, включаючи рак кори надниркових залоз, мозку і грудної залози. Асоційовані з пухлиною мутації *TP53*, як правило, є одноосновними замінами, які призводять до інгібування нормальної функції білка, а іноді й надають нові онкогенні властивості (посилення функції) [11].

Як транскрипційний фактор білок р53 координує свою мережу дій у першу чергу завдяки здатності до трансактивації генів-мішеней, викликаній клітинним стресом — пошкодженням ДНК, іонізуючим випромінюванням, впливом УФ-променів та безлічі інших внутрішніх і зовнішніх факторів. Зміни функції білка р53 є одними з найбільш універсальних молекулярних змін у клітинах при різних злоякісних новоутвореннях. Його інактивація призводить до менш ефективного функціонування внутрішньоклітинних сигнальних систем, що гальмують клітинний цикл при пошкодженнях; пригнічення індукції апоптозу; зниження ефективності репарації ДНК; більш ефективної адаптації до гіпоксії та стимулювання ангиогенезу; інгібування диференціювання; виникнення вираженої генетичної нестабільності, що сприяє подальшому пухлинному прогресуванню. Втрата функціональної активності р53 спричиняє проліферацію клітин із різноманітними генетичними аномаліями [12].

Мутації гена *TP53* не часто виявляють при дитячих онкологічних захворюваннях центральної та периферичної нервової системи. У первинних пухлинах НБ частота його мутацій не перевищує 1–2% та становить до 15% у рецидивних та/або прогресуючих. Для НБ є більш характерною втрата хромосомної ділянки 17p. Однак відзначають певні функціональні порушення білка р53 при цьому захворюванні [13].

Слід зазначити, що залежність прогнозу перебігу НБ від типу мутації в гені

TP53 поки вивчена недостатньо. До того ж, зазнає критики значущість основного методу (імуногістохімічного) для виявлення мутантного типу білка р53. Позитивну реакцію з антитілами до р53 приймали за наявність мутантного р53, який є більш стабільним, ніж білок дикого типу. Проведене пряме зіставлення результатів секвенування гена *TP53* та імуногістохімічного аналізу продемонструвало відсутність кореляції між вмістом білка р53 та мутаціями його гена [14].

Функціонування р53 значною мірою регулюється білком MDM2 (*mouse double minute 2*; *hDM2* — *human double minute 2*), онкогенним продуктом Е3 убіквітинлігази. MDM2 зворотно регулюється за допомогою р53 внаслідок його активації. У свою чергу MDM2 блокує р53 шляхом зв'язування з трансактиваційною ділянкою р53, що сприяє ядерному експорту білка р53, викликаючи убіквітин-опосередковану протеосомну деградацію. Таким чином, MDM2 інгібує як р53-опосередковану трансактиваційну функцію білка р53, так і стабільність самого білка р53. Ця саморегуляція за типом зворотного зв'язку жорстко контролює рівень р53 для підтримки гомеостазу в клітинах, що не піддавалися стресу, і відновлення гомеостазу у випадку реакції на стрес [15].

Приблизно в половині пухлин людини ген *TP53* залишається незмінним, але функція р53 дикого типу гальмується гіперактивністю і надлишковою експресією MDM2 або інактивацією інгібітора клітинного циклу та онкосупресора p14ARF. Однуклеотидний поліморфізм у положенні 309 інтрона гена *MDM2* призводить до кількаретового підвищення рівня MDM2 при сімейних формах раку; зокрема, надлишкову експресію MDM2 відзначають при неходжкінських лімфомах і В-клітинній хронічній лімфопроліферативній лейкемії [16].

Другий білок, MDMX (*MDM4* — у мишей), гомолог MDM2, стабілізує взаємодію між р53 і MDM2, тим самим сприяючи реалізації онкогенних властивостей MDM2. Обидва гени — MDM2 і MDMX — визначені як потенційні терапевтичні мішені для лікування раку. На сьогодні розроблено молекули-антагоністи MDM2, які порушують взаємодію між MDM2 і р53, що призводить до стабілізації р53 і його активації [15, 16].

Дійсно, відновлення активності р53 вже довело свою ефективність при регресії пухлин на тваринних моделях. Наразі проходять клінічні випробування, а також дослідження стратегій, спрямованих на відновлення функції р53 (таких як генна терапія р53, відновлення р53 дикого типу за допомогою дрібних молекул-антагоністів MDM2) [17].

Порушення регулювання ARF-MDM2 має велике значення у функціональній інактивації р53 у клітинах

НБ. Е3 убівітінлігаза MDM2 є головним регулятором активності p53. Порушення MDM2-p53 взаємодії фізіологічно відбувається при фосфорилуванні p53 за допомогою ATM і Chk2 кіназ у відповідь на стрес. Функціонування MDM2 також регулюється на декількох рівнях, у тому числі автоубівітіннуванням і деградацією, а також прямими молекулярними взаємодіями. Цікаво, що інактивація ARF (через делецію чи метилування промоторів) або активація MDM2 часто трапляються в лініях клітин НБ [18]. Регуляція шляху ARF-MDM2 часто порушена в клітинах НБ через прямі генетичні й епігенетичні механізми, що призводить до високої активності MDM2. Підвищена експресія білків IMT-1 і TWIST-1 періодично виникає при НБ та може додатково сприяти змінам в ARF-MDM2 шляху. Можливим способом відновлення активності білка p53 є його від'єднання від негативного регулятора MDM2 за рахунок конкуренції малих молекул за відповідні сайти зв'язування (наприклад Nutlin-3, Mi-63, і RITA) [18, 19], що має призвести до реактивації p53. Реактивація p53 є перспективним підходом до лікування НБ.

Дійсно, Nutlin-3 імітує p53-зв'язуючий пептид, перешкоджає з'єднанню MDM2 з p53. Nutlin-3 є ефективним для сповільнення росту і врешті — стимулювання апоптозу в клітинах НБ. Крім того, реактивація p53 через Nutlin-3 призводить до зупинки клітинного циклу в непухлинних клітинах, що може допомогти захистити їх від несприятливих наслідків хіміотерапії. Доклінічні дослідження показали, що Nutlin-3 не тільки пригнічує ріст клітин НБ *in vitro* та *in vivo*, а й запобігає утворенню метастазів пухлин у моделях ксенотрансплантатів. Цікаво, що навіть вінкристин- і доксорубіцин-стійкі ксенотрансплантати виявилися достатньо чутливими до Nutlin-3; це дозволяє припустити, що такий підхід не залежить від обмежень перехресної стійкості за наявності клітин-мішеней дикого типу p53. Потенційне обмеження цієї стратегії пов'язане з тим, що реактивація p53 через MDM2-антагоністи, такі як Nutlin-3, не обов'язково викликає апоптоз у пухлинних клітинах, але може спричинити тимчасове гальмування їх росту. В останніх дослідженнях показано, що клітини НБ із MNA більш схильні до загибелі, індукованої MDM2-антагоністами, тоді як при нормальній копійності гена *MUCN* при НБ основним результатом буде інгібування росту клітин [20].

Однак необхідно звернути увагу й на здатність НБ розвивати множинну лікарську стійкість до високоєфективних апоптоз-індукуючих препаратів. Встановлено, що підвищення частоти порушень у шляху p53/MDM2/p14ARF частіше виникає після хіміотерапії.

На підставі цих спостережень припускають, що порушення регуляції шляху p53/MDM2/p14ARF частіше відбуваються в рецидивних пухлинах НБ і є однією з причин розвитку хіміорезистентності [17]. Крім того, безперервний вплив Nutlin-3 сприяє появі мутацій TP53 *de novo*, пов'язаних із множинною лікарською стійкістю при кількох формах раку, в тому числі НБ. Разом з тим порушення MDM2-p53 взаємодії приводить до стабілізації як дикого типу, так і мутантного білка p53, що може становити дуже серйозну проблему при безпосередньому застосуванні MDM2-антагоністів для терапії пацієнтів з онкологічними захворюваннями, якщо не будуть розроблені p53-незалежні підходи до комбінованої терапії. Тому розробка терапевтичних стратегій для управління ARF/MDM2/p53 шляхом може стати ефективним методом лікування хворих на НБ, у тому числі MNA-позитивні [21].

З ідентифікацією нових генів та їхніх регуляторів, таких як мікроРНК, а також сигнальних шляхів, відповідальних за злоякісну трансформацію клітин при НБ, і визначенням груп ризику пацієнтів на молекулярній основі пов'язують подальший прогрес у лікуванні хворих на НБ. До того ж, ідентифікація нових патогномонічних факторів надасть допомогу при розробці терапевтичних стратегій, спрямованих безпосередньо проти цих біологічних шляхів.

В останні роки виявлено нові механізми регуляції активності гена *TP53*, серед яких окреме місце посідають епігенетичні фактори, а саме — мікроРНК — новий клас РНК, існування якого підтверджено лише близько 10 років тому. МікроРНК — це клас некодуєчих РНК довжиною приблизно 22 нуклеотиди, які відіграють важливу роль у регуляції трансляції та деградації мРНК, повністю або частково пригнічуючи роботу генів. Також є свідчення можливості взаємодії мікроРНК безпосередньо з ДНК у процесі РНК-залежного метилування ДНК, який є одним із ключових механізмів репресії генів, аельного виключення та попередження активності транспозонів [22–24].

У дослідженнях австралійських та американських вчених ідентифіковано мікроРНК-380, задіяну в зворотній регуляції активності гена *TP53* при НБ. Цю мікроРНК не виявлено в нормальних клітинах здорової людини, але вона дуже активна в період розвитку ембріона. Механізмом інгібування активності гена *TP53* є зв'язування мікроРНК-380 із мРНК *TP53* та блокування таким чином її здатності до синтезу білка [25].

Нещодавні дослідження підтвердили інгібуючу роль багатьох мікроРНК шляхом регуляції проліферації та апоптозу

при НБ. Серед цих онкосупресорних мікроРНК при НБ широко досліджено мікроРНК-34а. Показано, що мікроРНК-34а залучена у процес апоптозу, який опосередкований p53, та інгібує експресію білка *MUCN*. Ось чому зниження рівня експресії мікроРНК-34а у динаміці лікування НБ може розглядатися як суттєвий негативний прогностичний фактор, проте це ще потребує ретельного вивчення [26].

Члени родини мікроРНК-34, мікроРНК-34а,b,c взаємодіють з 3' ділянкою гена *MUCN*, що не транслюється, і пригнічують ріст клітинних ліній НБ із гемізиготною делецією *1p36*. Крім того, інші гени, що беруть участь у клітинній проліферації та апоптозі, є мішенню мікроРНК-34а, у тому числі фактори транскрипції E2F3, циклін D1 (*CCND1*) і циклінзалежна кіназа 4 (*CDK4*). Також встановлено, що загибель НБ клітин через інгібування *CDK1* відбувалася завдяки мікроРНК-34а-*MUCN* шляху. Проте мікроРНК-34а недиференційно експресується при сприятливих формах порівняно з несприятливою НБ [26].

Також мікроРНК-885-5р, що пригнічується через втрату *3p25.3* ділянки при НБ, здійснює онкосупресорний вплив на клітинний цикл НБ через таргетинг *CDK2*. Останні дані показують, що мікроРНК-885-5р бере участь у p53-залежних та незалежних регуляторних шляхах, спільно з ними впливаючи на прогресування клітинного циклу і виживання клітин НБ. Це негативно регулює *CDK2* і *MCM5* та активує p53 шлях у клітинах НБ дикого типу *TP53*, а також здатне викликати загибель клітин і старіння в *TP53*-мутантних НБ [27].

У деяких дослідженнях продемонстровано, що певні мікроРНК впливають на ріст, інвазію й метастазування клітин НБ *in vitro* та *in vivo*. Отже, біологію НБ клітин можна контролювати шляхом зміни рівнів мікроРНК. Гіперекспресія або сайленсинг конкретної мікроРНК можуть бути досягнуті кількома способами. МікроРНК може бути активована за допомогою синтетичних імітаторів, таких як малі інтерферуючі РНК-подібні олігорибонуклеотидні дуплекси або хімічно модифіковані олігорибонуклеотиди; і може бути інгібована за сприяння модифікованих антисенс-олігонуклеотидів. Наприклад, цільова доставка мікроРНК-34а з використанням наночастинок з анти-GD2 покриттям призводить до прискорення апоптозу і зниження росту та ангиогенезу клітин НБ [22].

Попередні результати дозволяють припустити, що мікроРНК є корисними для діагностики, визначення прогнозу та тактики лікування НБ. Розроблено таргетні стратегії для конкретних мікроРНК [28]. Проте наше розуміння функцій і генних регуляторних мереж мі-

кроРНК при НБ, як і раніше, обмежене, необхідне ще з'ясування їх ролі.

У підсумку слід зазначити, що НБ є першим прикладом впровадження молекулярної онкології в клінічну практику. Нині визначення груп ризику разом із гістологічною класифікацією та стадією, а також молекулярно-генетичних характеристик є обов'язковою діагностичною складовою при виборі оптимальної тактики лікування при НБ. Впровадження нових мультимодальних підходів до терапії та подальший прогрес у лікуванні хворих на НБ потребують удосконалення системи стратифікації пацієнтів за групами ризику та індивідуалізації лікування на основі генетичних особливостей пухлини.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Park J.R., Bagatell R., London W.B. et al. (2013) Children's Oncology Group's 2013 blueprint for research: neuroblastoma. *Pediatr. Blood Cancer*, 60(6): 985–993.
2. Capasso M., Diskin S.J. (2010) Genetics and genomics of neuroblastoma. *Cancer Treat. Res.*, 155: 65–84.
3. Volchenboum S.L., Cohn S.L. (2009) Progress in defining and treating high-risk neuroblastoma: lessons from the bench and bedside. *J. Clin. Oncol.*, 27(7): 1003–1004.
4. Evans A.E., D'Angio G.J., Randolph J. (1971) A proposed staging for children with neuroblastoma. Children's cancer study group A. *Cancer*, 27(2): 374–378.
5. Brodeur G.M., Pritchard J., Berthold F. et al. (1993) Revisions of the international criteria for neuroblastoma

- diagnosis, staging, and response to treatment. *J. Clin. Oncol.*, 11(8): 1466–1477.
6. Cohn S.L., Pearson A.D., London W.B. et al. (2009) The International Neuroblastoma Risk Group (INRG) classification system: an INRG Task Force report. *J. Clin. Oncol.*, 27(2): 289–297.
7. Schleiermacher G., Mosseri V., London W.B. et al. (2012) Segmental chromosomal alterations have prognostic impact in neuroblastoma: a report from the INRG project. *Br. J. Cancer.*, 107(8): 1418–1422.
8. Guimier A., Ferrand S., Pierron G. et al. (2014) Clinical characteristics and outcome of patients with neuroblastoma presenting genomic amplification of loci other than MYCN. *PLoS One*, 9(7): e101990.
9. Kushner B.H., Modak S., Kramer K. et al. (2014) Striking dichotomy in outcome of MYCN-amplified neuroblastoma in the contemporary era. *Cancer*, 120(13): 2050–2059.
10. Müller I., Larsson K., Frenzel A. et al. (2014) Targeting of the MYCN Protein with Small Molecule c-MYC Inhibitors. *PLoS One*, 9(5): e97285.
11. Muller P.A.J., Vousden K.H. (2013) P53 mutations in cancer. *Nature Cell Biol.*, 15: 2–8.
12. Bai L., Zhu W.G. (2006) P53: structure, function and therapeutic applications. *J. Cancer Mol.*, 2(4): 141–153.
13. Tweddle D.A., Pearson A.D., Haber M. et al. (2003) The p53 pathway and its inactivation in neuroblastoma. *Cancer Lett.*, 197(1–2): 93–98.
14. Goldman S.C., Chen C.Y., Lansing T.J. et al. (1996) The p53 signal transduction pathway is intact in human neuroblastoma despite cytoplasmic localization. *Am. J. Pathol.*, 148(5): 1381–1385.
15. Moll U.M., Petrenko O. (2003) The MDM2-p53 interaction. *Mol. Cancer Res.*, 1: 1001–1008.
16. Barone G., Tweddle D.A., Shohet J.M. et al. (2014) MDM2-p53 interaction in pediatric solid tumors: preclinical rationale, biomarkers and resistance. *Curr. Drug Targets.*, 15(1): 114–123.
17. Chen L., Tweddle D.A. (2012) p53, SKP2, and DKK3 as MYCN target genes and their potential therapeutic significance. *Front. Oncol.*, 2: 173.
18. Barbieri E., Preter K.D., Capasso M. et al. (2013) A p53 drug response signature identifies prognostic genes in high-risk neuroblastoma. *PLoS One*, 8(11): e79843.
19. Burmakin M., Shi Y., Hedström E. et al. (2013) Dual targeting of wild-type and mutant p53 by small molecule RITA results in the inhibition of N-Myc and key survival oncogenes and kills neuroblastoma cells *in vivo* and *in vitro*. *Clin. Cancer Res.*, 19(18): 5092–5103.
20. Arva N.C., Talbott K.E., Okoro D.R. et al. (2008) Disruption of the p53-Mdm2 complex by Nutlin-3 reveals different cancer cell phenotypes. *Ethn. Dis.*, 18 (2 Suppl 2): S2-1–8.
21. Tovar C., Graves B., Packman K. et al. (2013) MDM2 small-molecule antagonist RG7112 activates p53 signaling and regresses human tumors in preclinical cancer models. *Cancer Res.*, 73(8): 2587–2597.
22. Stallings R.L. (2009) MicroRNA involvement in the pathogenesis of neuroblastoma: potential for microRNA mediated therapeutics. *Curr. Pharm. Des.*, 15(4): 456–462.
23. Zhi F., Wang R., Wang Q. et al. (2014) MicroRNAs in neuroblastoma: small-sized players with a large impact. *Neurochem. Res.*, 39(4): 613–623.
24. Mei H., Lin Z.Y., Tong Q.S. (2014) The roles of microRNAs in neuroblastoma. *World J. Pediatr.*, 10(1): 10–16.
25. Swarbrick A., Woods S.L., Shaw A. et al. (2010) miR-380-5p represses p53 to control cellular survival and is associated with poor outcome in MYCN-amplified neuroblastoma. *Nat. Med.*, 16(10): 1134–1140.
26. Welch C., Chen Y., Stallings R.L. (2007) MicroRNA-34a functions as a potential tumor suppressor by inducing apoptosis in neuroblastoma cells. *Oncogene*, 26(34): 5017–5022.
27. Afanasyeva E.A., Mestdagh P., Kumps C. et al. (2011) MicroRNA miR-885-5p targets CDK2 and MCM5, activates p53 and inhibits proliferation and survival. *Cell Death Differ.*, 18(6): 974–984.
28. Zhao Z., Ma X., Hsiao T.H. et al. (2014) A high-content morphological screen identifies novel microRNAs that regulate neuroblastoma cell differentiation. *Oncotarget*, 5(9): 2499–2512.

Роль изменений регуляции p53/MDM2 пути в прогрессировании нейробластомы

Н.М. Храновская, М.В. Иномистова, Н.М. Свергун, О.В. Скачкова, Г.И. Климычук

Национальный институт рака, Киев

Резюме. Нейробластома (НБ) — злокачественное новообразование симпатической нервной системы, характеризующееся значительной клинической гетерогенностью. Несмотря на наличие устоявшихся прогностических факторов НБ, поиск новых, более специфичных генетических маркеров остается актуальным. На сегодня активно исследуют роль p53/MDM2 сигнального пути в патогенезе НБ. Как известно, инактивация p53 способствует опухолевому прогрессированию и пролиферации клеток с различными генетическими аномалиями. При НБ ген *TP53* обычно остается неизменным, но функция p53 может подавляться за счет нарушения деятельности его регуляторов. Исследование механизмов генетической и эпигенетической регуляции p53/MDM2 пути открывает возможности создания таргетной терапии, направленной на реактивацию p53, что является перспективным подходом к лечению больных НБ.

Ключевые слова: нейробластома, p53/MDM2 путь, микроРНК.

The role of alteration of p53/MDM2 pathway regulation in neuroblastoma progression

N.M. Khranovska, M.V. Inomistova, N.M. Svergun, O.V. Skachkova, G.I. Klymnyuk

National Cancer Institute, Kyiv

Summary. Neuroblastoma (NB) is malignant neoplasm of the sympathetic nervous system, characterized by significant clinical heterogeneity. Despite the existence of well-established prognostic factors of NB, finding of new and more specific genetic markers remains relevant. Nowadays, the role of p53/MDM2 signaling pathway in the pathogenesis of NB is actively investigated. As is known, inactivation of p53 promotes tumor progression and proliferation of cells with different genetic anomalies. *TP53* gene usually remains unmodified in NB but the function of p53 can be suppressed by altering its regulators activity. Investigation of genetic and epigenetic regulation mechanisms of p53/MDM2 pathway gives the possibility of creating target therapy for p53 reactivation, that is a promising approach to treatment of patients with NB.

Key words: neuroblastoma, p53/MDM2 pathway, microRNAs.