

УДК: 519.6; 51-76

Гиперактивация сигнального пути p53 – микроРНК: математическое моделирование вариантов противоопухолевой терапии

Воропаева О.Ф., Лисачев П.Д., Сенотрсова С.Д., Шокин Ю.И.

Институт вычислительных технологий СО РАН, Новосибирск, Россия

Аннотация. Выполнено численное исследование функционирования системы p53 – ингибитор – microRNA с использованием минимальной математической модели, описывающей лишь наиболее общие закономерности функционирования биологической системы с отрицательной обратной связью p53 – белок-ингибитор и положительной обратной связью p53 – microRNA. Адекватность принятой модели и результатов численного анализа подтверждается согласием с известными данными лабораторных исследований. В рамках принятой модели рассмотрены возможные стратегии восстановления нормального уровня p53 и p53-зависимых микроРНК в целях профилактики угрозы рака. Изучены варианты противораковой терапии, связанные с гиперактивацией регуляторов апоптоза p53 и микроРНК. Показана потенциально высокая эффективность противораковой терапии, мишенью которой является белок-ингибитор p53 как основное звено петли положительной обратной связи p53 – microRNA.

Ключевые слова: численное моделирование, уравнение с запаздыванием, онкомаркер, p53, Mdm2, Wip1, микроРНК, положительная обратная связь.

ВВЕДЕНИЕ

Белок p53 играет ключевую роль в подавлении развития опухолей. До 80 % опухолей у человека связаны с нарушением функции p53 [1–4], что позволяет рассматривать p53 как перспективную мишень для терапии злокачественных заболеваний человека [5]. Являясь транскрипционным фактором, p53 регулирует транскрипцию многих генов, контролируя тем самым множество биологических процессов, включая репарацию ДНК, клеточный цикл, апоптоз, старение и метаболизм [1, 2, 6].

Среди мишеней p53 есть не только гены, кодирующие белки, но и гены, кодирующие микроРНК [7–11]. МикроРНК (miR) – это небольшие (обычно длиной 20–24 нуклеотида) молекулы РНК, которые контролируют экспрессию генов, связываясь с мРНК, имеющими в своей структуре специфичный для каждой микроРНК сайт распознавания. Обычно микроРНК снижают уровень экспрессии мРНК-мишени, однако в некоторых случаях показано, что комплексы микроРНК с определенными РНК-связывающими белками могут увеличивать экспрессию генов-мишеней [12–14]. p53 может активировать или репрессировать транскрипцию генов микроРНК или оказывать опосредованное влияние на биогенез микроРНК, регулируя экспрессию компонентов молекулярных комплексов, обеспечивающих созревание микроРНК [15].

Транскрипционный фактор p53 находится под сложным контролем со стороны целого ряда позитивных и негативных регуляторов [6, 16–18]. В частности, к важнейшим ингибиторам p53 относятся Mdm2, Sirt1 и Wip1. Активность некоторых

регуляторов p53, в свою очередь, модулируется через p53-зависимые механизмы, что приводит к формированию сложной системы положительных и отрицательных обратных связей. Функционирование молекулярной сети, управляющей активностью p53, интенсивно изучается в связи с поиском эффективных маркеров и терапевтических целей при онкологических заболеваниях. При этом все новые данные свидетельствуют о важной роли p53-зависимых микроРНК в этих регуляторных контурах [6, 19]. Большой интерес, в частности, вызывают действующие через ингибиторы p53 положительные обратные связи мишеней с p53. Подобное взаимодействие показано для p53 и таких его мишеней, как let-7 [20], miR-15b [21], miR-16 [22, 23], miR-29 [24, 25], miR-34a [26–28], miR-143/145 [29], miR-192, -194 и -215 [30], miR-221 [10, 31], miR-335 [32], miR-509-5p [11], miR-605 [33]. Важно отметить, что некоторые из упомянутых микроРНК способны подавлять развитие опухолей как через p53-зависимые, так и через p53-независимые механизмы. К ним относятся, в частности, let-7, miR-15b, miR-16, miR-29, miR-34a, miR-145, miR-192 и miR-215 [24, 28, 30]. Все упомянутые микроРНК находятся в положительной зависимости от p53 и подавляют активность какого-либо ингибитора p53. Особый режим функционирования систем такого рода описывается в литературе как синергия, результатом которой является существенный одновременный рост уровней (или активности) p53 и мишени. В подобной ситуации возможен запуск программы апоптоза или необратимого прекращения деления (старения) для терапевтического воздействия на раковые клетки [11].

Результаты многочисленных лабораторных исследований свидетельствуют о том, что p53, его регуляторы и регулируемые им гены формируют крайне запутанную сигнальную сеть. Экспериментальные данные часто представляются взаимоисключающими, что затрудняет понимание основных механизмов взаимодействия в этой сети. Поэтому требуется проведение все новых экспериментов, планирование которых может быть существенным образом упрощено предварительными оценками, основанными на результатах математического моделирования. В связи с этим остро встают вопросы о создании базовых математических моделей для этих исследований, об оценке адекватности существующих и новых математических моделей, о выборе оптимального уровня их полноты и сложности.

Обзор математических моделей, предназначенных для описания (с разной степенью детализации) функционирования сигнального пути p53, можно найти, в частности, в [34–37] и цитируемой там литературе. В [38] выполнен обзор исследований в области построения математических моделей для изучения кинетики, регуляторной функции, а также оценки терапевтического потенциала микроРНК при различных заболеваниях, причем особое место отводится p53-зависимым микроРНК. Отметим, что наиболее важные для настоящего исследования работы представлены двумя основными направлениями: создание и анализ базовых математических моделей взаимодействия микроРНК – белок достаточно общего вида, и, с другой стороны, разработка и применение моделей функционирования сигнального пути p53, включающих в рассмотрение конкретные p53-зависимые микроРНК. Большую часть базовых моделей можно отнести к классу минимальных (малоразмерных), т.е. предназначенных лишь для описания наиболее общих закономерностей функционирования ключевых элементов исследуемых сигнальных путей на основе кинетики закона действующих масс, Михаэлиса – Ментен и Хилла.

К числу пионерских работ первого направления, по-видимому, следует отнести [39–44] (в них можно найти ссылки на ряд более ранних исследований). В [39] представлена кинетическая модель посттранскрипционной регуляции генов с помощью микроРНК, ускоряющих деградацию целевых мРНК. Адекватность результатов моделирования оценивается по отношению к экспериментальному прогнозу скорости

распада miR-124a, а также экспериментально измеренным значениям скорости распада мРНК-мишеней человека. В [40–42] разработаны математические модели и выполнен анализ некоторых ключевых молекулярных механизмов воздействия микроРНК на процесс трансляции белка. В [43, 44] представлен обзор и проанализированы базовые кинетические модели взаимодействия белка с некодирующими РНК (нкРНК), в том числе и с микроРНК. В [44] обсуждается достаточно широкий круг вопросов, из них выделим следующий. В минимальных математических моделях [44] рассматриваются два основных механизма взаимодействия нкРНК – белок. В рамках одного из них скорости синтеза мРНК и нкРНК считались независимыми от концентрации нкРНК-белкового комплекса, который, однако, может прикрепляться к ДНК и регулировать одну из этих скоростей. Поэтому в рамках другого механизма предполагалось, что скорость синтеза нкРНК (микроРНК) напрямую зависит от уровня нкРНК-белкового комплекса. В [44] отмечается, что вероятные проявления этих двух механизмов обратных связей схожи, потому что скорость синтеза белка пропорциональна скорости синтеза мРНК. По этой причине достаточно тщательно изучить свойства только одного из них. Отметим также, что в [44] на основе анализа представленных моделей классифицированы основные сценарии кинетики экспрессии генов, включая гены микроРНК. В продолжение этих исследований в работе [45] с применением трех достаточно общих (минимальных) математических моделей проанализировано влияние доставки (в терапевтических целях) внутриклеточной нкРНК на экспрессию генов в клетке.

В [46] разработана математическая модель функционирования сигнального пути, задействованного в регуляторных процессах при раке легкого, и показано, что мутации двух ключевых белков приводят к положительной регуляции miR-9 и подавлению let-7. В [47] рассматривается простейшая нелинейная математическая модель микроРНК-опосредованной трансляции белка, представленной как многостадийный процесс. Модель подвергается редукции на основе использования квазистационарных приближений. По замыслу авторов, редукция позволяет определять ключевые реакции и контрольные параметры в механизме репрессии со стороны микроРНК. На основе полученных результатов моделирования высказан ряд гипотез о характере регуляторной функции микроРНК.

Большой цикл исследований [48–54] посвящен как достаточно общим вопросам построения моделей взаимодействия белок – микроРНК, так и их конкретным приложениям. Отметим работы [54, 55], в которых для сетей типа мРНК – белок – микроРНК предложены минимальные математические модели взаимодействия. В [54] авторы иллюстрируют адекватность разработанного ими подхода на примере белка p21 и связанных с ним 15 микроРНК. В [52, 53] сформулированы математические модели общего вида, а в качестве примера рассмотрен сигнальный модуль, состоящий из белков p53, Sirt1 и miR-34a. В [52], в частности, представлены математические модели четырех гипотетических механизмов взаимодействия микроРНК с негативным регулятором активности p53 белком Sirt1.

В [56] предпринята попытка применить инструменты теории управления при разработке критериев контроля обратной связи для достижения идеальной адаптации сети p53 – Mdm2 – miR к возмущению p53, поддержания базового уровня p53 или его восстановления. В работе используется минимальная модель в предположении, что микроРНК прямо и/или косвенно регулируют биохимический процесс, вызывающий p53-зависимый апоптоз. Здесь же сеть p53 – Mdm2 – miR, по-видимому, впервые представлена многостадийным процессом весьма общего вида, который принимает скалярные входные сигналы и зависит от управляющей переменной. В [57] это направление получило дальнейшее развитие: разработана двухконтурная стратегия управления отрицательной обратной связью, включая регулирование концентрации

нутлина при его воздействии на раковую клетку. В [57] отмечается, что полученные результаты могут иметь значение для планирования лабораторных экспериментов, нацеленных на проектирование синтетических схем обратной связи.

В [58] представлена математическая модель ядра модуля p53 – Mdm2 с тремя микроРНК-опосредованными петлями обратной связи с участием miR-192, miR-34a и miR-29a. Представлены результаты численных и лабораторных исследований роли микроРНК 29a, 34a и 192 в регуляции ответа p53 на стресс. Численно показана возможность затухания периодических колебаний уровня p53 под влиянием негативного влияния микроРНК на белок-ингибитор. В [59] предпринята интересная попытка моделирования динамики p53 с учетом ряда участников его сети, включая miR-16, однако в данной работе микроРНК отводится лишь второстепенная роль одного из участников процесса. В [60] представлены развивающийся подход [61] результаты исследований последних лет, в том числе – анализ регуляторной функции факторов транскрипции и микроРНК в процессах, определяющих судьбу клетки. В [62] построена булева модель и на ее основе выполнено исследование роли miR-449a в регуляции клеточного цикла и апоптоза под действием ионизирующего излучения. Молекулярная модель [62] интересна тем, что она описывает во взаимодействии сразу два чувствительных к стрессу механизма – активацию p53 и активацию miR-449a в ответ на повреждение ДНК. Предполагается, что в каждом из этих механизмов задействован Sirt1: функциональность Sirt1 непосредственно контролируется miR-449a, и это может косвенно повлиять на динамику p53.

Авторами настоящей работы выполнен цикл исследований динамики p53-зависимых микроРНК на основе минимального подхода [63], предложенного для системы p53 – Mdm2 с применением кинетики Гольдбетера – Кошланда и Михаэлиса – Ментен с запаздыванием. Предполагается, что за функциями с запаздыванием скрывается сложный многостадийный процесс передачи сигналов в рассматриваемой молекулярной сети. На первом этапе исследований рассматривались микроРНК, которые находятся в положительной прямой зависимости от p53. Для принятой математической модели динамики p53 – Mdm2 – miR с запаздыванием численно показана сходимости ее решения к решению системы ОДУ высокой размерности (и наоборот), описывающей в достаточно общем виде функционирование сигнального пути p53 как многостадийного процесса [64]. Разработана иерархия минимальных математических моделей функционирования сети p53 – ингибитор – miR с положительным прямым и обратным вариантами связи p53 – miR [65, 66] и выполнен комплекс численных экспериментов, иллюстрирующих адекватность принятого подхода и очерчивающих область его применимости. Показано, в частности, что численные решения качественно и количественно согласуются с экспериментальными данными о фазовом состоянии системы ключевых белков и микроРНК в норме и в условиях стресса, а также адекватно воспроизводят изменение уровня микроРНК в ответ на активацию p53 [37]. На этой основе в рамках принятых моделей даны обобщенные оценки диагностического потенциала p53-зависимых микроРНК при онкологических и нейродегенеративных заболеваниях [37]. Результаты численных экспериментов показали также, что, как и в исследовании [58], где математическая модель имеет размерность пространства состояний $n = 22$, подавление белка-ингибитора микроРНК гипотетически может приводить к затуханию периодических колебаний уровня p53. Выполненный комплекс исследований дает основания для того, чтобы рассматривать полученные минимальные модели как базовые при разработке более полных математических моделей сигнального пути p53.

В настоящей работе рассматривается система p53 – ингибитор – miR, в которую включены две петли обратной связи: p53 – ингибитор (отрицательная обратная связь) и p53 – miR (положительная обратная связь). На основе минимальной математической

модели функционирования данной биологической системы исследуется гипотеза об эффективности противораковой терапии, мишенью которой является петля положительной обратной связи. Работа является продолжением и развитием темы, поднятой в [66].

1. МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ

Для описания взаимосвязи p53 – ингибитор – miR привлекается нелинейная система дифференциальных уравнений с запаздывающими аргументами. Эта минимальная модель составлена из балансных соотношений, отражающих вклад в совместную динамику p53 – ингибитор – miR механизмов, которые можно разделить на следующие группы: генерация, деградация (в рамках модели эти термины подразумевают как конститутивные спонтанные процессы генерации и деградации, так и обусловленные влиянием каких-либо не описанных явно молекул), а также особо выделяемые процессы взаимодействия между моделируемыми факторами (p53-зависимая активация генерации белка-ингибитора p53 и микроРНК, инактивация/деградация p53 под влиянием ингибитора и микроРНК-зависимое подавление генерации ингибитора). Модель имеет следующий вид:

$$\frac{dy_1}{dt} = a_1 - a_2 f(y_1(t), y_2(t), k_f) - a_3 y_1(t), \quad (1)$$

$$\frac{dy_2}{dt} = b_1 g(y_1(t - \tau_1), y_2(t - \tau_1), k_g) - b_2 y_2(t) - b_3 f(y_2(t - \tau_3), y_3(t - \tau_3), k_m), \quad (2)$$

$$\frac{dy_3}{dt} = c_1 + c_2 f(y_1(t - \tau_2), y_3(t - \tau_2), k_p) - c_3 y_3(t), \quad (3)$$

В уравнениях (1)–(3) в качестве основных представлений функций взаимодействия использовались аппроксимации типа Гольдбетера – Кошланда, которые в литературе сравниваются по чувствительности с функциями Хилла высокой степени:

$$f(y_1, y_2, k) = \frac{1}{2} \left(y_1 + y_2 + k - \sqrt{(y_1 + y_2 + k)^2 - 4y_1 y_2} \right), \quad (4)$$

$$g(y_1, y_2, k_g) = \frac{y_1 - f(y_1, y_2, k_f)}{y_1 + k_g - f(y_1, y_2, k_f)}. \quad (5)$$

Здесь и ниже y_1 , y_2 , y_3 – уровни p53, белка-ингибитора и микроРНК, соответственно; a_1 и c_1 – константы скорости генерации белка p53 и микроРНК; a_2 – константа скорости деградации p53 под влиянием ингибитора; a_3 , b_2 , c_3 – константы скорости деградации p53, ингибитора и микроРНК, соответственно; b_1 и c_2 – константы скорости p53-зависимой генерации ингибитора и микроРНК; b_3 – константа скорости микроРНК-зависимого подавления генерации белка-ингибитора; параметры k_f , k_g , k_p и k_m имеют смысл констант диссоциации, которым в рамках принятой модели отводится роль регуляторов, обеспечивающих «тонкую настройку» уровней взаимосвязи образующих комплексы участников сети; параметры τ_1 , τ_2 и τ_3 определяют время запаздывания реакции на сигналы в молекулярной сети.

Базальные значения параметров (отмечены верхним индексом 0), соответствующие нормальному функционированию рассматриваемой сети, определялись на основе анализа лабораторных данных и общих представлений о совместной динамике белков и микроРНК [37, 65]:

$$\begin{aligned}
 a_1^0 &= 1 \frac{y \cdot e.}{c}, & b_1^0 &= 1.005 \frac{y \cdot e.}{c}, & c_1^0 &= 65 \frac{y \cdot e.}{c}, & k_f^0 &= 180 y \cdot e., \\
 a_2^0 &= 0.03 c^{-1}, & b_2^0 &= 8.9 \cdot 10^{-3} c^{-1}, & c_2^0 &= 1.2 c^{-1}, & k_g^0 &= 28 y \cdot e., \\
 a_3^0 &= 10^{-4} c^{-1}, & c_3^0 &= 1.1 c^{-1}, & b_3^0 &= 6 \cdot 10^{-4} c^{-1}, & k_m^0 &= 10 y \cdot e., & k_p^0 &= 50.4 y \cdot e.
 \end{aligned} \tag{6}$$

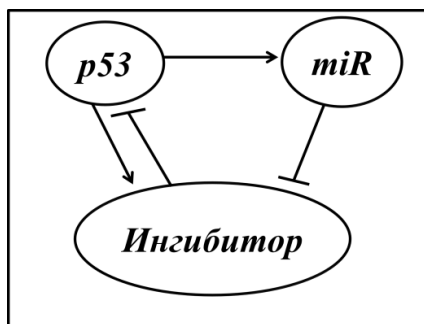


Рис. 1. Схема рассматриваемых в математической модели (1)–(5) биологических взаимосвязей.

В численных экспериментах, нацеленных на количественное сопоставление с экспериментальными данными, в качестве белка-ингибитора в рамках математической модели (1)–(5) рассматриваются такие негативные регуляторы p53, как Mdm2 или Wip1. Точно так же конкретный выбор микроРНК определяется заданным видом биологической связи и зависит от описываемого лабораторного эксперимента. Согласно принятой здесь модели, положительная обратная связь p53 – miR реализуется следующим образом: miR находится в положительной зависимости от p53 и оказывает отрицательное воздействие на ингибитор (схема взаимодействий изображена на рис. 1). Выше отмечалось, что такой вариант связи характерен, по меньшей мере, для полутора десятков микроРНК, в том числе miR-34a, miR-143/145, miR-192, miR-194 и miR-215, (см., например, [67, 68]). Дополнительно отметим, что в [65, 66] адекватность модели (1)–(5) продемонстрирована на примере вариантов p53-зависимой активации (в лабораторных условиях) miR-34a/b/c, miR-143/145, miR-221.

Уравнения принятой математической модели (1)–(5) содержат функции с запаздывающими аргументами. Поэтому численное решение представленной системы уравнений основано на применении идеи метода шагов, который позволяет рассматривать функции с запаздывающими аргументами как известные, а возникающие задачи с начальными условиями – как задачи Коши для нелинейных систем ОДУ первого порядка (более подробно этот метод описан в [36, 65]). Начальные данные для системы (1)–(5) задаются в следующем виде:

$$y_k(\theta) = \varphi_k(\theta), \quad k = 1, 2, 3, \quad \theta \in [-\tau, 0], \quad \tau = \max(\tau_1, \tau_2, \tau_3).$$

В данной работе основные серии численных экспериментов проводились при $\tau_1 = 120$ с, $\tau_2 = 70$ с, $\tau_3 = 70$ с. Некоторые вопросы влияния параметров запаздывания на численное решение обсуждаются в [65]. На основании проведенных методических расчетов [36] для решения задачи применялся метод предиктор-корректор, обеспечивающий второй порядок точности приближенного решения задачи. Основные расчеты проводились на сетке с разрешением 100 точек на 1 секунду. Численные эксперименты показали, что влияние начальных данных на численное решение модели (1)–(5) проявляется лишь на относительно небольших интервалах времени, поэтому начальные условия задавались функциями, тождественно равными нулю.

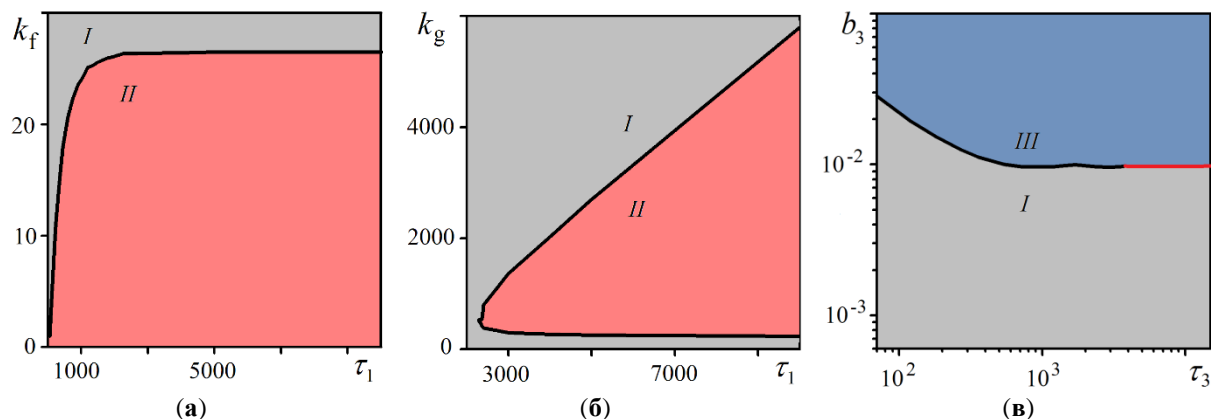
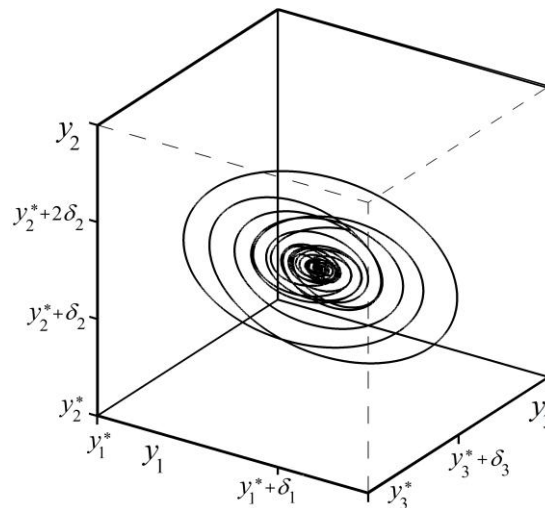
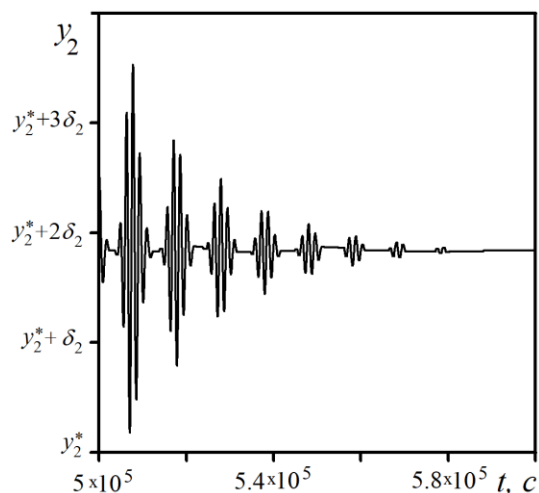
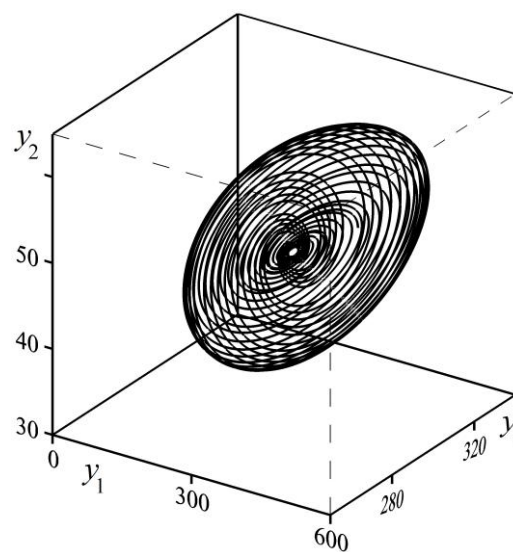
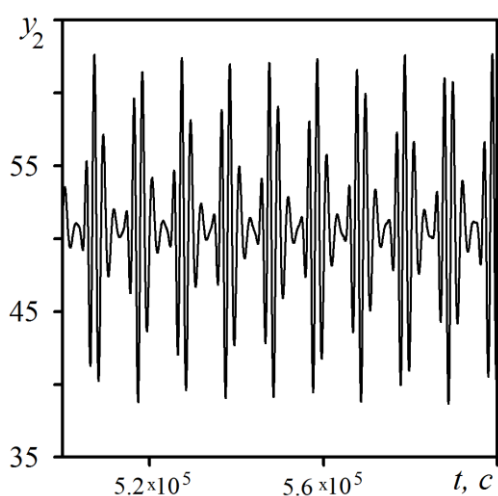


Рис. 2. Линии нейтральности в плоскости параметров (τ_1, k_f) , (τ_1, k_g) и (τ_3, b_3) : I – область устойчивых стационарных решений, II – область периодических решений, III – область значений параметров, выводящих решение за границы области применимости модели. Черные линии – бифуркации Андронова-Хопфа, красная линия – бифуркации рождения тора из предельной точки.

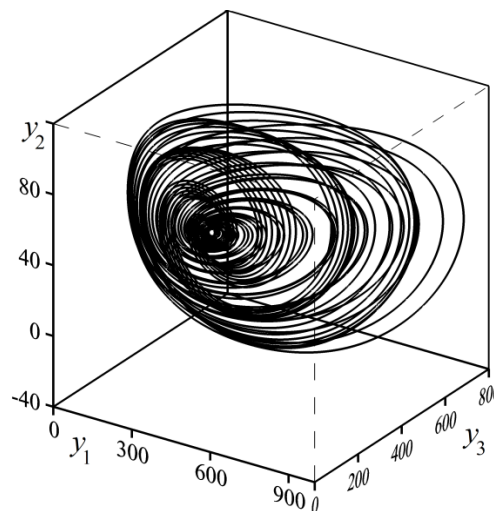
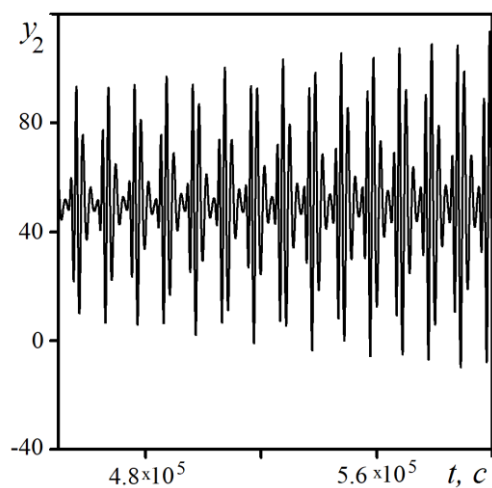
Численный анализ качественных свойств решений системы (1)–(6), выполненный в широком диапазоне значений параметров, продемонстрировал определяющую роль состояния системы p53 – ингибитор в динамическом поведении всей рассматриваемой биологической системы (см. также [66]). Отметим, что в базальных условиях (6) система уравнений (1)–(5) имеет решения в виде монотонно возрастающих функций, описывающих переход концентраций p53, белка-ингибитора и микроРНК с нулевого на новый стационарный уровень значений, или в виде затухающих колебаний с тем же стационарным значением. В случае отклонения от базального состояния возможны бифуркации Андронова – Хопфа и квазипериодические колебания. В частности, в ходе численных экспериментов было получено, что к бифуркациям Андронова – Хопфа приводит варьирование одной из констант диссоциации k_f или k_g относительно базальных значений, причем параметр запаздывания τ_1 играет в этом процессе ключевую роль (остальные параметры полагаются равными (6)). В связи с этим представляется интересным рассмотрение линий нейтральности в плоскости параметров (τ_1, k_f) и (τ_1, k_g) , полученных в результате численного анализа решений (выбор параметров k_f и k_g в этой части работы обусловлен результатами наших предыдущих исследований [36, 37, 66]). На рисунках 2,а и 2,б представлены линии нейтральности, разделяющие плоскости параметров (τ_1, k_f) и (τ_1, k_g) на область I, в которой стационарное решение асимптотически устойчиво, и область II периодических колебаний решений. Исследование линий нейтральности показывает, что в рамках принятой математической модели (1)–(6) возникновение периодических колебаний в ответ на стрессовое воздействие возможно при всех значениях $\tau_1 \geq 45$ с и относительно небольших значениях k_f , что соответствует, в частности, наблюдаемой в лабораторных экспериментах ситуации укрепления обратной связи в сети p53 – Mdm2 в условиях стресса (на это обстоятельство имеются указания в [63]). Наиболее ярко этот эффект проявляется при малых τ_1 , а с ростом запаздывания он ослабевает, что также согласуется с большей частью лабораторных исследований, в которых ответ на стрессовое воздействие характеризуется не усилением, а ослаблением связи p53 и Mdm2 (см., например, [34, 69]). Об аналогичных тенденциях в функционировании системы p53 – ингибитор свидетельствуют и линии нейтральности в плоскости параметров (τ_1, k_g) .



(а) $b_3 = 10.5, b_3^0 = 0.0063, \delta_1 = 2 \cdot 10^{-9}, \delta_2 = 2 \cdot 10^{-10}, \delta_3 = 1 \cdot 10^{-9}$



(б) $b_3 = 16.2, b_3^0 = 0.00972$



(в) $b_3 = 16.7, b_3^0 = 0.01002$

Рис. 3. Изменение кинетических кривых и фазовых портретов решения системы (1)–(5) в зависимости от параметра b_3 ; $\tau_3 = 10000$ с, $y_1^* = 246.129104866$, $y_2^* = 59.9093386726$, $y_3^* = 217.28115054$

Особые динамические режимы решений системы (1)–(5) связаны также с влиянием микроРНК на систему p53 – ингибитор, осуществляемым через параметры τ_3 и b_3 . Данные на рисунке 2,в демонстрируют некоторые результаты численного анализа, которые включают в себя совокупность критических точек в плоскости параметров (τ_3, b_3) , связанных с бифуркациями Андронова – Хопфа рождения предельных циклов (линия нейтральности при $\tau_3 < 3800$ с) и бифуркациями рождения торообразных фазовых траекторий из предельной точки ($\tau_3 \geq 3800$ с). Дополнительно на рисунках 3,а–в показаны наиболее характерные фрагменты кинетических кривых и фазовые портреты полученных решений в пространстве состояний (y_1, y_2, y_3) . Важно отметить, что возникновение квазипериодических колебаний при достаточно больших значениях b_3 , до определенной степени, можно рассматривать как маркер приближения математической модели к границе области физически адекватных решений системы (1)–(5) (см. $y_2 < 0$ на рис. 3,в) и, тем самым, к границе применимости рассматриваемой математической модели. По нашему мнению, обнаружение границ применимости модели имеет важное методологическое значение. Вместе с тем, как будет показано ниже (см. также [66]), даже при данном ограничении модель позволяет «охватить» весьма широкий диапазон наиболее характерных состояний биологической системы p53 – ингибитор – микроРНК.

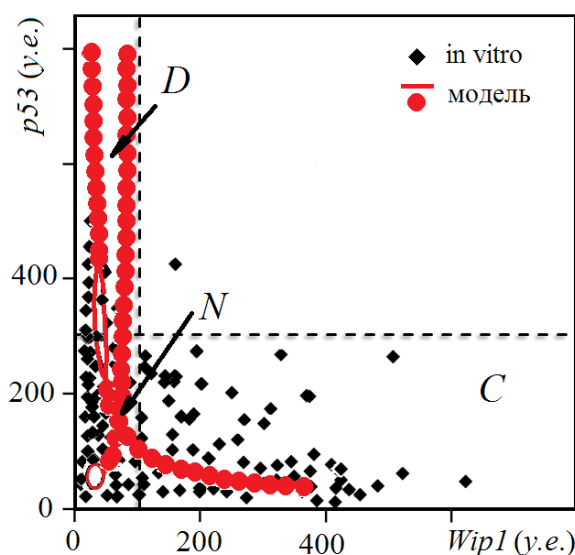


Рис. 4. Фазовый портрет состояний системы p53 – Wip1.

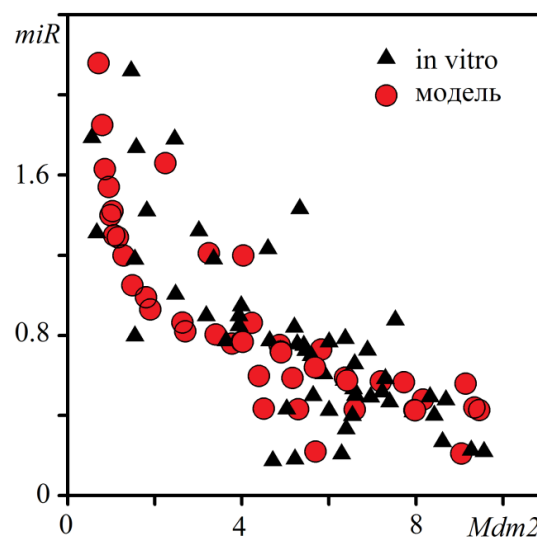


Рис. 5. Относительное изменение уровней мРНК Mdm2 и микроРНК.

Для проверки адекватности математической модели (в части описания взаимосвязи p53 и белка-ингибитора) выполнено сопоставление результатов расчетов с экспериментальными данными, иллюстрирующими изменение состояний системы p53 – Wip1 в клетках с p53 дикого типа под влиянием стрессового воздействия. На рисунке 4 представлены фазовые состояния системы p53 – Wip1, наблюдаемые в лабораторных экспериментах [69], а также неподвижные точки и предельные циклы численных решений, полученных при поочередном варьировании параметров относительно значений (6). Вертикальной и горизонтальной штриховыми линиями отмечены верхние границы условной (произвольно выбранной в рамках модели) нормы для Wip1 и p53 соответственно. При базальных значениях параметров (6) компоненты решения системы дифференциальных уравнений (1)–(3) находятся в пределах установленных границ нормы (ниже – ситуация N от: «Normal»). Из анализа

экспериментальных данных видно, что клеткам с относительно низким сигналом p53 могут соответствовать весьма высокие уровни сигнала Wip1. Такие состояния системы p53 – Wip1 характерны для ситуации подавления активности p53 и риска развития рака (ситуация *C* от: «Cancer»), что иллюстрирует возможности p53 и Wip1 как онкомаркеров. Также можно наблюдать состояния с высоким уровнем p53 при низком уровне Wip1, которые, как правило, связываются с риском запуска программы гибели клеток (ситуация *D* от: «Degeneration»). Полученные в численном эксперименте неподвижные точки решений модели, как и экспериментальные данные, демонстрируют на фазовой плоскости (p53, Wip1) взаимосвязь, описываемую приближенно гиперболической зависимостью вида $y \sim 1/x$. Дополнительно отметим, что модель (1)–(5) воспроизводит наблюдаемые *in vitro* [69] колебательные режимы функционирования системы (характерные для низкого уровня повреждения ДНК), которые регулируются петлей отрицательной обратной связи p53 – Wip1. Все характерные значения численных решений располагаются на фазовой плоскости (p53, Wip1) в том же диапазоне величин, что и экспериментальные данные (сохраняются принятые в [69] условные единицы и масштабы изменения уровней белков).

Отдельно анализировалась адекватность математической модели взаимосвязи белка-ингибитора и микроРНК. С этой целью использовались полученные в культивируемых клетках карциномы экспериментальные данные для матричной РНК Mdm2 и miR-143 [29]. На рисунке 5 представлены относительные (вычисленные по отношению к базальным) изменения стационарных решений модели (1)–(5), которые получены при одновременном варьировании параметров b_1, b_2, b_3, k_p, c_1 . Видно, что численные решения удовлетворительно согласуются с результатами лабораторных исследований, в которых было показано, что экспрессия Mdm2 отрицательно коррелирует с экспрессией miR-143 ($R^2 = 0.6195$, $p = 0.001$). Это свидетельствует об адекватности используемых в модели (1)–(5) аппроксимаций, описывающих связь белок-ингибитор – микроРНК.

2. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Математическая модель (1)–(5) привлекалась для оценки эффективности ряда теоретически возможных терапевтических противоопухолевых стратегий, которые могут быть реализованы в рамках принятого минимального, отражающего лишь основные закономерности функционирования p53-сети, подхода к моделированию.

При численном анализе терапевтическое воздействие считалось эффективным, если система, состояние которой определяется совокупностью характерных значений уровней p53, белка-ингибитора p53 и микроРНК, переходит из онкоопасной ситуации *C* в ситуацию *D* запуска массовой гибели дефектных клеток. Вариантом удачной профилактической стратегии, восстанавливающей нормальное функционирование p53, но не обеспечивающей гиперактивацию апоптоза, полагаем переход из онкоопасной ситуации *C* в ситуацию *N*. Во всех численных экспериментах исходной считалась ситуация *C*, которая моделировалась отклонением от значений (6) только одного параметра $b_2 = 0.1b_2^0$, характеризующего скорость деградации ингибитора (самопроизвольной и за счет неучтенных в модели связей). В ходе численных экспериментов имитировалось поочередное воздействие на отдельные звенья петли положительной обратной связи p53 – микроРНК или на все ее звенья одновременно.

Основные результаты исследований, иллюстрирующие варианты профилактического и терапевтического воздействия на раковые клетки, представлены на рисунке 6 фазовыми траекториями численных решений. Стрелками показаны направления изменения уровня белков и микроРНК от ситуации *C* к характерным состояниям, отмеченным соответствующими маркерами.

Воздействие на петлю отрицательной обратной связи p53 – ингибитор

На первом этапе исследований рассматривались гипотетические стратегии противораковой терапии, мишенью которых является только петля отрицательной обратной связи p53 – ингибитор. Численный анализ показал, что при уменьшении более чем на два порядка скорости генерации ингибитора, обусловленной взаимодействием p53 с геном ингибитора (параметр b_1), или увеличении в несколько раз относительно (b) скорости распада ингибитора (параметр b_2) состояние ингибитора близко к нокауту. Это приводит к резкому росту уровней p53 и микроРНК, что гипотетически соответствует ситуации клеточной смерти (D) (см., например, [70]). Такое же воздействие на систему оказывает существенное ослабление связи p53 с геном ингибитора за счет увеличения значения параметра k_g на три и более порядка. Соответствующие примеры описанных терапевтических воздействий изображены на рисунке 6: $b_1 = 0.01b_1^0$ – траектория 1, $b_2 = 4b_2^0$ – траектория 2, $k_g = 4000k_g^0$ – траектория 3. В то же время, поочередное изменение значений остальных параметров модели, влияющих на петлю отрицательной обратной связи p53 – ингибитор, не дает требуемого эффекта.

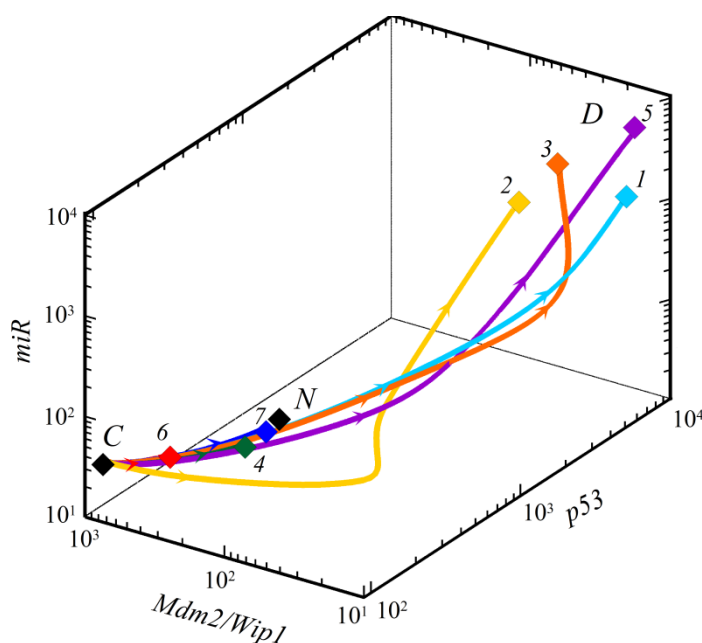


Рис. 6. Фазовые траектории, иллюстрирующие возможные варианты терапевтического (траектории 1–3, 5) и профилактического (траектории 4, 7) воздействия на раковые клетки. Маркеры N и C соответствуют состоянию нормы и онкоопасной ситуации. Синергический эффект (5) достигается, когда реализуются одновременно стратегии, описываемые траекториями 6 и 7.

Воздействие на микроРНК как звено петли положительной обратной связи

Представляет интерес вопрос об отклике p53 (в норме) на усиление ингибирующего воздействия микроРНК на белок, который выполняет функцию отрицательного регулятора p53. В рамках принятой модели ключевыми параметрами, регулируемыми эту связь, являются c_k ($k = 1, 2, 3$) и b_3 . В данной серии численных экспериментов производилось поочередное варьирование каждого из этих параметров.

Численный анализ показал, что при варьировании значений параметров c_k даже значительное (не менее чем на 50 %) изменение уровня микроРНК приводит к изменению уровней белков лишь на 2–15 %. Это согласуется, в определенной мере, с

выводами экспериментальной работы [71], в которой на модели рака легких мыши показано, что дефицит miR-34a (наиболее изученных микроРНК с обсуждаемым типом связи с p53) не способен ослабить множественные p53-опосредованные эффекты супрессоров опухолей у мышей и/или вызвать увеличение онкогенеза *in vivo*, возможно, из-за значительной избыточности в сигнальном пути p53 (ранее подобные выводы были опубликованы в [72]). В [71] установлено также, что репрессия MDM4 (ингибитора p53) с помощью miR-34a в опухолевых клетках с p53 дикого типа коррелировала с весьма умеренным увеличением уровня белка p53. Отметим, что поочередное варьирование параметров $k_m = qk_m^0$ и $k_p = qk_p^0$ в широком диапазоне значений ($10^{-6} \leq q \leq 10^6$) также не приводит к существенному усилению влияния микроРНК на p53.

Увеличение одного только параметра b_3 , направленное на усиление воздействия микроРНК на белок-ингибитор, показало, что при $b_3 > 11b_3^0$ уровни p53 и Mdm2 могут изменяться достаточно сильно – в пределах от 50 до 300 процентов. При этом максимально возможный эффект может состоять лишь в полном восстановлении нормального функционирования системы p53 – ингибитор – miR (состояние нормы N). В качестве примера на рисунке 6 (траектория 4) представлен фазовый портрет решения при $b_3 = 15b_3^0$. Видно, что неподвижная предельная точка этой траектории весьма близка к неподвижной точке (см. маркер N на рис. 6) решения при базальных (6) значениях параметров.

Воздействие на петлю положительной обратной связи p53 – miR

На данном этапе численных экспериментов одновременно варьировались значения нескольких параметров, позволяющих (в рамках принятой модели) существенно влиять на петлю положительной обратной связи p53 – miR. При этом получены такие решения, которые могут рассматриваться как иллюстрация гипотетической терапевтической стратегии выхода из онкоопасной ситуации через запуск программы p53- и микроРНК-зависимой апоптотической гибели дефектных клеток. Вновь отметим, что во всех численных экспериментах для моделирования онкоопасного состояния, требующего терапевтического вмешательства, устанавливался относительно высокий уровень белка-ингибитора.

Одним из наиболее интересных вариантов представляется изменение параметров $b_1 = 0.1b_1^0$, $b_3 = 13.5b_3^0$, $k_m = 15k_m^0$, которое приводит к одновременному существенному росту уровней микроРНК и p53 (см. траекторию 5 на рис. 6). При этом можно говорить, в определенной мере, о синергическом эффекте, поскольку данная терапевтическая стратегия является эффективной (в рамках принятой модели) только при одновременном воздействии на все элементы положительной обратной связи p53 – miRNA: с одной стороны – за счет ингибирования положительного воздействия p53 на белок-ингибитор и, с другой – через усиление негативного воздействия на белок-ингибитор со стороны микроРНК. Результатом такого воздействия является близкое к нокауту состояние белка-ингибитора, вследствие чего создаются условия для гиперактивации как p53, так и его мишени – микроРНК. Последнее особенно важно, если микроРНК обладают независимой от p53 функцией регулятора апоптоза. На рисунке 6 представлены наиболее характерные из перечисленных вариантов состояний системы p53 – ингибитор – miR. Можно видеть, что характерные значения решения при $b_3 = 13.5b_3^0$, $k_m = 15k_m^0$ (траектория 6) описывают онкоопасную ситуацию C , а при $b_1 = 0.1b_1^0$ (траектория 7 на рис. 6) – ситуацию, близкую к базальной N . Отметим, что траектория 7 может рассматриваться как иллюстрация профилактических мероприятий

в клетках с высоким риском развития рака. Представляется, что обнаруженный синергический эффект, проявляющийся в гиперактивации системы p53 – микроРНК, можно объяснить с точки зрения достаточно известного биологического факта, полученного для наиболее изученного семейства микроРНК miR-34a: сверхэкспрессия miR-34a усиливает транскрипционную активность p53 (см., например, [73]), которая дополнительно стимулируется также нокаутом ключевого отрицательного регулятора.

Обсуждаемые здесь эффекты наблюдались в лабораторных экспериментах *in vitro* и *in vivo* для целого ряда систем. Так, механизм гиперактивации сигнального пути p53 обнаружен в [74] для взаимодействующих по принципу положительной обратной связи белков p73, p53 и Egr1. В [75, 76] проводилась оценка проапоптотического пути miR-34a – SIRT1 – p53 в клетках печени крысы, а также при неалкогольной жировой болезни этого органа и в легочной ткани у курильщиков и пациентов с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ). В [77] у пациентов с ХОБЛ оксидативный стресс вызывал активацию молекул miR-34a, которые через посредника уменьшали экспрессию SIRT1. Это приводило к гиперактивации p53 и, как следствие, инициации программы старения в эпителиальных клетках.

3. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в настоящей работе с привлечением минимальной математической модели выполнено численное исследование функционирования системы p53 – ингибитор – miR. Результаты сопоставлений с экспериментальными данными, иллюстрирующими некоторые наиболее важные состояния системы в условиях стресса, подтверждают адекватность принятого подхода к моделированию. Рассмотрены возможные стратегии восстановления нормального уровня p53 и p53-зависимых микроРНК в целях профилактики угрозы рака. Изучены варианты противораковой терапии, связанные с одновременной гиперактивацией двух регуляторов апоптоза – p53 и микроРНК. В рамках принятой модели показана потенциально высокая эффективность противораковой терапии, мишенью которой является белок-ингибитор p53 как основное звено петли положительной обратной связи p53 – microRNA.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Vousden K.H., Prives C. Blinded by the light: The growing complexity of p53. *Cell*. 2009. V. 137. P. 413–431. doi: [10.1016/j.cell.2009.04.037](https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.04.037).
2. Желтухин А.О., Чумаков П.М. Повседневные и индуцируемые функции гена p53. *Успехи биол. химии*. 2010. Т. 50. С. 447–516.
3. Muller P.A., Vousden K.H. p53 mutations in cancer. *Nat. Cell Biol.* 2013. V. 15. P. 2–8. doi: [10.1038/ncb2641](https://doi.org/10.1038/ncb2641).
4. Liu J., Zhang C., Hu W., Feng Z. Tumor suppressor p53 and its mutants in cancer metabolism. *Cancer Lett.* 2015. V. 356. P. 197–203. doi: [10.1016/j.canlet.2013.12.025](https://doi.org/10.1016/j.canlet.2013.12.025).
5. Алмазов В.П., Кочетков Д.В., Чумаков П.М. p53 – инструмент для терапии злокачественных заболеваний человека. *Молекулярная биология*. 2007. Т. 41. № 6. С. 947–963.
6. Liu J., Zhang C., Zhao Y., Feng Z. MicroRNA control of p53. *J. Cell. Biochem.* 2017. V. 118. P. 7–14. doi: [10.1002/jcb.25609](https://doi.org/10.1002/jcb.25609).
7. He L., He X., Lim L.P., Stanchina E.D., Xuan Z., Liang Y., Xue W., Zender L., Magnus J., Ridzon D., et al. A microRNA component of the p53 tumour suppressor network. *Nature*. 2007. V. 447. P. 1130–1134. doi: [10.1038/nature05939](https://doi.org/10.1038/nature05939).
8. Tarasov V., Jung P., Verdoodt B., Lodygin D., Epanchintsev A., Menses A., Meister G., Hermeking H. Differential regulation of microRNAs by p53 revealed by massively

- parallel sequencing: miR-34a is a p53 target that induces apoptosis and G1-arrest. *Cell Cycle*. 2007. V. 6. № 13. P. 1586–1593. doi: [10.4161/cc.6.13.4436](https://doi.org/10.4161/cc.6.13.4436).
9. Shin S., Lee E.M., Cha H.J., Bae S., Jung J. H., Lee S.M., Yoon Y., Lee H., Kim S., Kim H. et al. MicroRNAs that respond to histone deacetylase inhibitor SAHA and p53 in HCT116 human colon carcinoma cells. *Int. J. Oncol.* 2009. V. 35. P. 1343–1352. doi: [10.3892/ijo.00000452](https://doi.org/10.3892/ijo.00000452).
 10. Bisio A., De Sanctis V., Del Vescovo V., Denti M.A., Jegga A.G., Inga A., Ciribilli Y. Identification of new p53 target microRNAs by bioinformatics and functional analysis. *BMC Cancer*. 2013. V. 13. Article No. 552. doi: [10.1186/1471-2407-13-552](https://doi.org/10.1186/1471-2407-13-552).
 11. Ren Z.J., Nong X.Y., Lv Y.R., Sun H.H., An P.P., Wang F., Li X., Liu M., Tang H. Mir-509-5p joins the Mdm2/p53 feedback loop and regulates cancer cell growth. *Cell Death Dis.* 2014. V. 5. Article No. e1387. doi: [10.1038/cddis.2014.327](https://doi.org/10.1038/cddis.2014.327).
 12. Selbach M., Schwanhauser B., Thierfelder N., Fang Z., Khanin R., Rajewsky N. Widespread changes in protein synthesis induced by microRNAs. *Nature*. 2008. V. 455. P. 58–63. doi: [10.1038/nature07228](https://doi.org/10.1038/nature07228).
 13. Bartel D.P. Metazoan microRNAs. *Cell*. 2018. V. 173. P. 20–51. doi: [10.1016/j.cell.2018.03.006](https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.006).
 14. Vasudevan S. Posttranscriptional upregulation by microRNAs. *WIREs RNA*. 2012. V. 3. P. 311–330. doi: [10.1002/wrna.121](https://doi.org/10.1002/wrna.121).
 15. Suzuki H.I., Yamagata K., Sugimoto K., Iwamoto T., Kato S., Miyazono K. Modulation of microRNA processing by p53. *Nature*. 2009. V. 460. P. 529–533. doi: [10.1038/nature08199](https://doi.org/10.1038/nature08199).
 16. Harris S.L., Levine A.J. The p53 pathway: positive and negative feedback loops. *Oncogene*. 2005. V. 24. P. 2899–2908. doi: [10.1038/sj.onc.1208615](https://doi.org/10.1038/sj.onc.1208615).
 17. Чумаков П.М. Белок p53 и его универсальные функции в многоклеточном организме. *Успехи биол. химии*. 2007. Т. 47. С. 3–52.
 18. Lu X. Tied up in loops: positive and negative autoregulation of p53. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2010. V. 2. Article No. a000984. doi: [10.1101/cshperspect.a000984](https://doi.org/10.1101/cshperspect.a000984).
 19. Tricoli JV, Jacobson JW. MicroRNA: Potential for cancer detection, diagnosis, and prognosis. *Cancer Res.* 2007. V. 67. P. 4553–4555. doi: [10.1158/0008-5472.CAN-07-0563](https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-07-0563).
 20. Xie C., Chen W., Zhang M., Cai Q., Xu W., Li X., Jiang S. MDM4 regulation by the let-7 miRNA family in the DNA damage response of glioma cells. *FEBS Lett.* 2015. V. 589. P. 1958–1965. doi: [10.1016/j.febslet.2015.05.030](https://doi.org/10.1016/j.febslet.2015.05.030).
 21. Rahman M., Lovat F., Romano G., Calore F., Acunzo M., Bell E.H., Nana-Sinkam P. miR-15b/16-2 regulates factors that promote p53 phosphorylation and augments the DNA damage response following radiation in the lung. *J. Biol. Chem.* 2014. V. 289. P. 26406–26416. doi: [10.1074/jbc.M114.573592](https://doi.org/10.1074/jbc.M114.573592).
 22. Zhang X., Wan G., Mlotshwa S., Vance V., Berger F.G., Chen H., Lu X. Oncogenic Wip1 phosphatase is inhibited by miR-16 in the DNA damage signaling pathway. *Cancer Res.* 2010. V. 70. P. 7176–7186. doi: [10.1158/0008-5472.CAN-10-0697](https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-10-0697).
 23. Issler M.V.C., Mombach J.C.M. MicroRNA-16 feedback loop with p53 and Wip1 can regulate cell fate determination between apoptosis and senescence in DNA damage response. *PLoS ONE*. 2017. V. 12. Article No. e0185794. doi: [10.1371/journal.pone.0185794](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185794).
 24. Ugalde A.P., Ramsay A.J., de la Rosa J., Varela I., Mariño G., Cadiñanos J., Lu J., Freije J.M., López-Otín C. Aging and chronic DNA damage response activate a regulatory pathway involving miR-29 and p53. *EMBO J.* 2011. V. 30. P. 2219–2232. doi: [10.1038/emboj.2011.124](https://doi.org/10.1038/emboj.2011.124).
 25. Wang B., Li D., Sidler C., Rodriguez-Juarez R., Singh N., Heyns M., Ilnytsky Y., Bronson R.T., Kovalchuk O. A suppressive role of ionizing radiation-responsive miR-

- 29c in the development of liver carcinoma via targeting WIP1. *Oncotarget*. 2015. V. 6. P. 9937–9950. doi: [10.18632/oncotarget.3157](https://doi.org/10.18632/oncotarget.3157).
26. Bommer G.T., Gerin I., Feng Y., Kaczorowski A.J., Kuick R., Love R.E., Zhai Y., Giordano T.J., Qin Z.S., Moore B.B. et al. p53-mediated activation of miRNA34 candidate tumor-suppressor genes. *Curr. Biol.* 2007. V. 17. P. 1298–1307. doi: [10.1016/j.cub.2007.06.068](https://doi.org/10.1016/j.cub.2007.06.068).
 27. Yamakuchi M., Lowenstein C.J. MiR-34, SIRT1, and p53: The feedback loop. *Cell Cycle*. 2009. V. 8. P. 712–715. doi: [10.4161/cc.8.5.7753](https://doi.org/10.4161/cc.8.5.7753).
 28. Neault M., Couteau F., Bonneau É., De Guire V., Mallette F.A. Molecular regulation of cellular senescence by microRNAs: implications in cancer and age-related diseases. *Int. Rev. Cell. Mol. Biol.* 2017. V. 334. P. 27–98. doi: [10.1016/bs.ircmb.2017.04.001](https://doi.org/10.1016/bs.ircmb.2017.04.001).
 29. Zhang J., Sun Q., Zhang Z., Ge S., Han Z.G., Chen W.T. Loss of microRNA-143/145 disturbs cellular growth and apoptosis of human epithelial cancers by impairing the Mdm2–p53 feedback loop. *Oncogene*. 2013. V. 32. P. 61–69. doi: [10.1038/onc.2012.28](https://doi.org/10.1038/onc.2012.28).
 30. Pichiorri F., Suh S.S., Rocci A., De Luca L., Taccioli C., Santhanam R., Zhou W., Benson D.M. Jr, Hofmainster C., Alder H. et al. Downregulation of p53-inducible microRNAs 192, 194, and 215 impairs the p53/MDM2 autoregulatory loop in multiple myeloma development. *Cancer Cell*. 2010. V. 18. P. 367–381. doi: [10.1016/j.ccr.2010.09.005](https://doi.org/10.1016/j.ccr.2010.09.005).
 31. Fornari F., Milazzo M., Galassi M., Callegari E., Veronese A., Miyaaki H., Sabbioni S., Mantovani V., Marasco E., Chieco P. et al. p53/mdm2 feedback loop sustains miR-221 expression and dictates the response to anticancer treatments in hepatocellular carcinoma. *Mol. Cancer Res.* 2014. V. 12. P. 203–216. doi: [10.1158/1541-7786.MCR-13-0312-T](https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-13-0312-T).
 32. Scarola M., Schoeftner S., Schneider C., Benetti R. miR-335 directly targets Rb1 (pRb/p105) in a proximal connection to p53-dependent stress response. *Cancer Res.* 2010. V. 70. P. 6925–6933. doi: [10.1158/0008-5472.CAN-10-0141](https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-10-0141).
 33. Xiao J., Lin H., Luo X., Luo X., Wang Z. miR-605 joins p53 network to form a p53:miR-605:Mdm2 positive feedback loop in response to stress. *EMBO J.* 2011. V. 30. P. 524–532. doi: [10.1038/emboj.2010.347](https://doi.org/10.1038/emboj.2010.347).
 34. Batchelor E., Loewer A. Recent progress and open challenges in modeling p53 dynamics in single cells. *Curr. Opin. Syst. Biol.* 2017. V. 3. P. 54–59. doi: [10.1016/j.coisb.2017.04.007](https://doi.org/10.1016/j.coisb.2017.04.007).
 35. Воропаева О.Ф., Шокин Ю.И. Численное моделирование обратной связи p53–Mdm2 в биологическом процессе апоптоза. *Вычислительные технологии*. 2012. Т. 17. № 6. С. 47–63.
 36. Воропаева О.Ф., Шокин Ю.И., Непомнящих Л.М., Сенчукова С.Р. *Математическое моделирование функционирования и регуляции биологической системы p53–Mdm2*. Москва: изд-во РАМН, 2014. 176 с.
 37. Воропаева О.Ф., Сенотрусова С.Д., Шокин Ю.И. Дерегуляция p53-зависимых микроРНК: результаты математического моделирования. *Математическая биология и биоинформатика*. 2017. Т. 12. № 1. С. 151–175. doi: [10.17537/2017.12.151](https://doi.org/10.17537/2017.12.151).
 38. Zhao C., Zhang Y., Popel A.S. Mechanistic computational models of microRNA-mediated signaling networks in human diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 2019. V. 20. № 2. doi: [10.3390/ijms20020421](https://doi.org/10.3390/ijms20020421).
 39. Khanin R., Vinciotti V. Computational Modeling of Post-Transcriptional Gene Regulation by MicroRNAs. *J. Computational Biology*. 2008. V. 15. № 3. P. 305–316. doi: [10.1089/cmb.2007.0184](https://doi.org/10.1089/cmb.2007.0184).

40. Nissan T., Parker R. Computational analysis of miRNA-mediated repression of translation: Implications for models of translation initiation inhibition. *RNA*. 2008. V. 14. № 8. P. 1480–1491. doi: [10.1261/rna.1072808](https://doi.org/10.1261/rna.1072808).
41. Zinovyev A., Morozova N., Nonne N., Barillot E., Harel-Bellan A., Gorban A.N. Dynamical modeling of microRNA action on the protein translation process. *BMC Systems Biology*. 2010. V. 4. № 13. doi: [10.1186/1752-0509-4-13](https://doi.org/10.1186/1752-0509-4-13).
42. Zinovyev A., Morozova N., Gorban A., Harel-Bellan A. Mathematical modeling of microRNA-mediated mechanisms of translation repression. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2013. V. 774. P. 189–224. doi: [10.1007/978-94-007-5590-1_11](https://doi.org/10.1007/978-94-007-5590-1_11).
43. Zhdanov V.P. Effect of non-coding RNA on bistability and oscillations in mRNA-protein interplay. *Biophys. Rev. Lett.* 2010. V. 5. № 2. P. 89–107. doi: [10.1142/S1793048010001159](https://doi.org/10.1142/S1793048010001159).
44. Zhdanov V.P. Kinetic models of gene expression including non-coding RNAs. *Physics Reports*. 2011. V. 500. № 1. P. 1–42. doi: [10.1016/j.physrep.2010.12.002](https://doi.org/10.1016/j.physrep.2010.12.002).
45. Zhdanov V.P. Intracellular miRNA or siRNA delivery and function. *BioSystems*. 2018. V. 171. P. 20–25. doi: [10.1016/j.biosystems.2018.05.007](https://doi.org/10.1016/j.biosystems.2018.05.007).
46. Kang H.-W., Crawford M., Fabbri M., Nuovo G., Garofalo M., Nana-Sinkam S.P., Friedman A. A mathematical model for microRNA in lung cancer. *PLoS ONE*. 2013. V. 8. № 1. Article No. e53663. doi: [10.1371/journal.pone.0053663](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053663).
47. Nikolova E., Jordanov I., Vitanov N.K. Dynamical features of the quasi-stationary microRNA-mediated protein translation process supported by eIF4F translation initiation factors. *Computers and Mathematics with Applications*. 2013. V. 66. P. 1716–1725. doi: [10.1016/j.camwa.2013.04.021](https://doi.org/10.1016/j.camwa.2013.04.021).
48. Schmitz U., Wolkenhauer O., Vera Ju. MicroRNA cancer regulation: advanced concepts, bioinformatics and systems biology tools. *Advances in experimental medicine and biology*. 2013. V. 774. doi: [10.1007/978-94-007-5590-1](https://doi.org/10.1007/978-94-007-5590-1).
49. Vera Ju., Schmitz U., Lai X., Engelmann D., Khan F. M., Wolkenhauer O., Putzer B. M. Kinetic modeling-based detection of genetic signatures that provide chemoresistance via the E2F1–p73/DNp73–miR-205 network. *Cancer Research*. 2013. V. 73. № 12. P. 3511–3524. doi: [10.1158/0008-5472.CAN-12-4095](https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-12-4095).
50. Lai X., Schmitz U., Gupta S. K., Bhattacharya A., Kunz M., Wolkenhauer O., Vera Ju. Computational analysis of target hub gene repression regulated by multiple and cooperative miRNAs. *Nucleic Acids Research*. 2012. V. 40. № 18. P. 8818–8834. doi: [10.1093/nar/gks657](https://doi.org/10.1093/nar/gks657).
51. Nikolov S., Vera Ju., Schmitz U., Wolkenhauer O. A model-based strategy to investigate the role of microRNA regulation in cancer signalling networks. *Theory in Biosciences*. 2011. V. 130. № 1. P. 55–69. doi: [10.1007/s12064-010-0109-5](https://doi.org/10.1007/s12064-010-0109-5).
52. Lai X., Wolkenhauer O., Vera Ju. Modeling miRNA regulation in cancer signaling systems: mir-34a regulation of the p53/Sirt1 signaling module. *Computational Modeling of Signaling Networks. Methods in Molecular Biology*. 2012. V. 880. P. 87–108. doi: [10.1007/978-1-61779-833-7_6](https://doi.org/10.1007/978-1-61779-833-7_6).
53. Lai X., Wolkenhauer O., Vera Ju. Understanding microRNA-mediated gene regulatory networks through mathematical modelling. *Nucleic Acids Research*. 2016. V. 44. № 13. P. 6019–6035. doi: [10.1093/nar/gkw550](https://doi.org/10.1093/nar/gkw550).
54. Lai X., Bhattacharya A., Schmitz U., Kunz M., Vera Ju., Wolkenhauer O. A systems' biology approach to study microRNA-mediated gene regulatory networks. *BioMed Research International*. 2013. V. 2013. Article No. 703849. doi: [10.1155/2013/703849](https://doi.org/10.1155/2013/703849).
55. Luo Z., Azencott R., Zhao Y. Modeling miRNA-mRNA interactions: fitting chemical kinetics equations to microarray data. *BMC Systems Biology*. 2014. V. 8. № 19. doi: [10.1186/1752-0509-8-19](https://doi.org/10.1186/1752-0509-8-19).

56. Ooi H.K., Ma L. Integral control feedback circuit for the reactivation of malfunctioning p53 pathway. *arXiv*: 1510.04136 [q-bio.MN]. 2015. URL: arxiv.org/abs/1510.04136 (accessed 17.03.2019).
57. Azam M. R., Fazal S., Ullah M., Bhatti A. I. System-based strategies for p53 recovery. *IET Syst. Biol.* 2018. V. 12. № 3. P. 101–107. doi: [10.1049/iet-syb.2017.0025](https://doi.org/10.1049/iet-syb.2017.0025).
58. Moore R., Ooi H.K., Kang T., Bleris L., Ma L. MiR-192-mediated positive feedback loop controls the robustness of stress-induced p53 oscillations in breast cancer cells. *PLoS Computational Biology*. 2015. V. 11. № 12. Article No. e1004653. doi: [10.1371/journal.pcbi.1004653](https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1004653).
59. Jonak K., Kurpas M., Szoltysek K., Janus P., Abramowicz A., Puszynski K. A novel mathematical model of ATM/p53/NF- κ B pathways points to the importance of the DDR switch-off mechanisms. *BMC Systems Biology*. 2016. V. 10. № 75. doi: [10.1186/s12918-016-0293-0](https://doi.org/10.1186/s12918-016-0293-0).
60. Liu Z., Shen J., Cai S., Yan F. *MicroRNA regulatory network: structure and function*. Springer, 2018. 231 p. doi: [10.1007/978-94-024-1577-3](https://doi.org/10.1007/978-94-024-1577-3).
61. Zhang T., Brazhnik P., Tyson J.J. Exploring mechanisms of the DNA-damage response: p53 pulses and their possible relevance to apoptosis. *Cell Cycle*. 2007. V. 6. № 1. P. 85–94. doi: [10.4161/cc.6.1.3705](https://doi.org/10.4161/cc.6.1.3705).
62. Gupta S., Silveira D.A., Mombach J.C.M. Modeling the role of microRNA-449a in the regulation of the G2/M cell cycle checkpoint in prostate LNCaP cells under ionizing radiation. *PLoS ONE*. 2018. V. 13. № 7. Article No. e0200768. doi: [10.1371/journal.pone.0200768](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200768).
63. Tiana G., Jensen M.H., Sneppen K. Time delay as a key to apoptosis induction in the p53 network. *Eur. Phys. J. B*. 2002. № 29. P. 135–140. doi: [10.1140/epjb/e2002-00271-1](https://doi.org/10.1140/epjb/e2002-00271-1).
64. Воропаева О.Ф., Козлова А.О., Сенотрусова С.Д. Численный анализ перехода от уравнения с запаздыванием к системе ОДУ в математической модели сети онкомаркеров. *Вычислительные технологии*. 2016. Т. 21. № 2. С. 12–25.
65. Воропаева О.Ф., Сенотрусова С.Д. Переход от уравнения с запаздыванием к системе обыкновенных дифференциальных уравнений в модели сети онкомаркеров. *Математическое моделирование*. 2017. Т. 29. № 9. С. 135–154.
66. Сенотрусова С.Д., Воропаева О.Ф. Математическое моделирование функционирования положительной связи в системе онкомаркеров p53–микроРНК. *Сиб. журн. вычисл. математики*. 2019. Т. 22. № 3. С. 17–34.
67. Kitadate A., Ikeda S., Teshima K., Ito M., Toyota I., Hasunuma N., Takahashi N., Miyagaki T., Sugaya M., Tagawa H. MicroRNA-16 mediates the regulation of a senescence-apoptosis switch in cutaneous T-cell and other non-Hodgkin lymphomas. *Oncogene*. 2016. V. 35. № 28. P. 3692–3704. doi: [10.1038/onc.2015.435](https://doi.org/10.1038/onc.2015.435).
68. Munk R., Panda A.C., Grammatikakis I., Gorospe M., Abdelmohsen K. Senescence-associated microRNAs. *International Review of Cell and Molecular Biology*. 2017. V. 334. P. 177–205. doi: [10.1016/bs.ircmb.2017.03.008](https://doi.org/10.1016/bs.ircmb.2017.03.008).
69. Batchelor E., Mock C.S., Bhan I., Loewer A., Lahav G. Recurrent initiation: A mechanism for triggering p53 pulses in response to DNA damage. *Molecular Cell*. 2008. V. 30. № 3. P. 277–289. doi: [10.1016/j.molcel.2008.03.016](https://doi.org/10.1016/j.molcel.2008.03.016).
70. Yang R., Huang B., Zhu Y., Li Y., Liu F., Shi J. Cell type-dependent bimodal p53 activation engenders a dynamic mechanism of chemoresistance. *Science Advances*. 2018. V. 4. № 12. Article No. eaat5077. doi: [10.1126/sciadv.aat5077](https://doi.org/10.1126/sciadv.aat5077).
71. Okada N., Lin C.-P., Ribeiro M.C., Biton A., Lai G., He X., Bu P., Vogel H., Jablons D.M., Keller A.C. et al. A positive feedback between p53 and miR-34 miRNAs mediates tumor suppression. *Genes & Development*. 2014. V. 28. P. 438–450. doi: [10.1101/gad.233585.113](https://doi.org/10.1101/gad.233585.113).

72. Concepcion C.P., Han Y.-C., Mu P., Bonetti C., Yao E., D'Andrea A., Vidigal J.A., Maughan W.P., Ogrodowski P., Ventura A. Intact p53-dependent responses in mir-34-deficient mice. *PLoS Genetics*. 2012. V. 8. № 7. Article No. e1002797. doi: [10.1371/journal.pgen.1002797](https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002797).
73. Navarro F., Lieberman J. miR-34 and p53: new insights into a complex functional relationship. *PLoS ONE*. 2015. V. 10. Article No. e0132767. doi: [10.1371/journal.pone.0132767](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132767).
74. Yu J., Baron V., Mercola D., Mustelin T., Adamson E.D. A network of p73, p53 and Egr1 is required for efficient apoptosis in tumor cells. *Cell Death and Differentiation*. 2007. V. 14. P. 436–446. doi: [10.1038/sj.cdd.4402029](https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4402029).
75. Kato R., Mizuno S., Kadowaki M., Shiozaki K., Akai M., Nakagawa K., Oikawa T., Iguchi M., Osanai K., Ishizaki T. et al. Sirt1 expression is associated with CD31 expression in blood cells from patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Respiratory Research*. 2016. V. 17. Article No. 139. doi: [10.1186/s12931-016-0452-2](https://doi.org/10.1186/s12931-016-0452-2).
76. Castro R.E., Ferreira D.M.S., Afonso M.B., Borralho P.M., Machado M.V., Cortez-Pinto H., Rodrigues C.M. miR-34a/SIRT1/p53 is suppressed by ursodeoxycholic acid in the rat liver and activated by disease severity in human non-alcoholic fatty liver disease. *J. Hepatology*. 2013. V. 58. № 1. P. 119–125. doi: [10.1016/j.jhep.2012.08.008](https://doi.org/10.1016/j.jhep.2012.08.008).
77. Baker J.R., Vuppusetty C., Colley T., Papaioannou A.I., Fenwick P., Donnelly L., Ito K., Barnes P.J. Oxidative stress dependent microRNA-34a activation via PI3K α reduces the expression of sirtuin-1 and sirtuin-6 in epithelial cells. *Scientific Reports*. 2016. V. 6. Article No. 35871. doi: [10.1038/srep35871](https://doi.org/10.1038/srep35871).

Рукопись поступила в редакцию 16.05.2019, переработанный вариант поступил 11.06.2019.
Дата опубликования 28.06.2019.