

# НЕКАНОНИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ РЕТИНОВОЙ КИСЛОТЫ КАК ВОЗМОЖНЫЙ МЕХАНИЗМ ФОРМИРОВАНИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ КЛЕТОК К РЕТИНОИДНОЙ ТЕРАПИИ

А.Д. Еникеев, А.В. Комельков, М.Е. Аксельрод, Е.М. Чевкина

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России;  
Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24

**Контакты:** Андрей Викторович Комельков [komelkov@gmail.com](mailto:komelkov@gmail.com)

Ретиновая кислота (РК) является одним из наиболее функционально значимых внутриклеточных метаболитов витамина А, регулирующим важнейшие физиологические процессы, включая дифференцировку клеток, органов и тканей. РК успешно применяется в терапии острого промиелоцитарного лейкоза. Препараты на основе РК и других природных и синтетических ретиноидов активно разрабатываются для лечения и других онкопатологий, включая различные солидные опухоли. Однако применение РК в терапии злокачественных опухолей сильно ограничено быстрым приобретением клетками РК-резистентности. Механизмы формирования устойчивости к РК до сих пор малоизвестны, что объясняется, по-видимому, большим количеством генов, транскрипция которых прямо или опосредованно регулируется РК, в том числе генов, регулирующих активность и метаболизм самой РК. Ситуация дополнительно усложняется сравнительно недавно обнаруженной негеномной, или неканонической, активностью РК, которая заключается в нетранскрипционной регуляции ключевых протеинкиназ, задействованных в опухолевой прогрессии. Обзор посвящен анализу данных литературы о неканонической активности РК. В нем изложены современные представления об основных механизмах, реализующих каноническую геномную активность РК, представлены имеющиеся на сегодняшний день сведения об РК-зависимой нетранскрипционной регуляции протеинкиназ ERK1/2, PI3K/AKT, p38MAPK и PKC, рассмотрены возможные механизмы, реализующие данную активность РК, а также значение РК-зависимой активации внутриклеточных сигнальных путей в формировании РК-резистентности и изменении злокачественного потенциала малигнизированных клеток.

**Ключевые слова:** ретиновая кислота, неканоническая активность, ядерные рецепторы, протеинкиназа, РК-резистентность

DOI: 10.17650/1726-9784-2019-18-4-43-50

## NON-CANONICAL ACTIVITY OF RETINOIC ACID AS A POSSIBLE MECHANISM OF RETINOID RESISTANCE IN CANCER THERAPY

A.D. Enikeev, A.V. Komelkov, M.E. Akselrod, E.M. Tchekina

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation;  
24 Kashirskoye Shosse, Moscow 115478, Russia

Retinoic acid (RA) is one of the most functionally active intracellular metabolites of vitamin A, regulating the key physiological processes, including the differentiation of cells, organs and tissues. RA is successfully applied in the treatment of acute promyelocytic leukemia. Drugs based on RA and other natural and synthetic retinoids are being actively developed for the treatment of other oncopathologies, including various solid tumors. However, the use of RA in the treatment of malignant tumors is restricted by the rapid acquisition of RA-resistance. The mechanisms of RA-resistance formation are still poorly understood, what could be explained apparently by the large number of genes directly or indirectly being regulated by RA at transcription level, including genes regulating the activity and metabolism of RA itself. The situation is further complicated by the relatively recently discovered non-genomic or non-canonical activity of RA, which consists in the non-transcriptional regulation of key protein kinases involved in tumor progression. The review is devoted to the analysis of published data on non-canonical activity of RA. The review provides a modern view on the main mechanisms implementing the canonical genomic activity of the RA, presents available information on the RA-dependent non-transcriptional regulation of ERK1/2, PI3K/AKT, p38MAPK and PKC protein kinases and possible mechanisms mediating this activity as well as potential significance of the RA-dependent activation of intracellular signaling pathways in the formation of RA-resistance and the malignant potential of transformed cells.

**Key words:** Retinoic acid, non-canonical activity, nuclear receptors, protein kinase, RA-resistance

### Введение

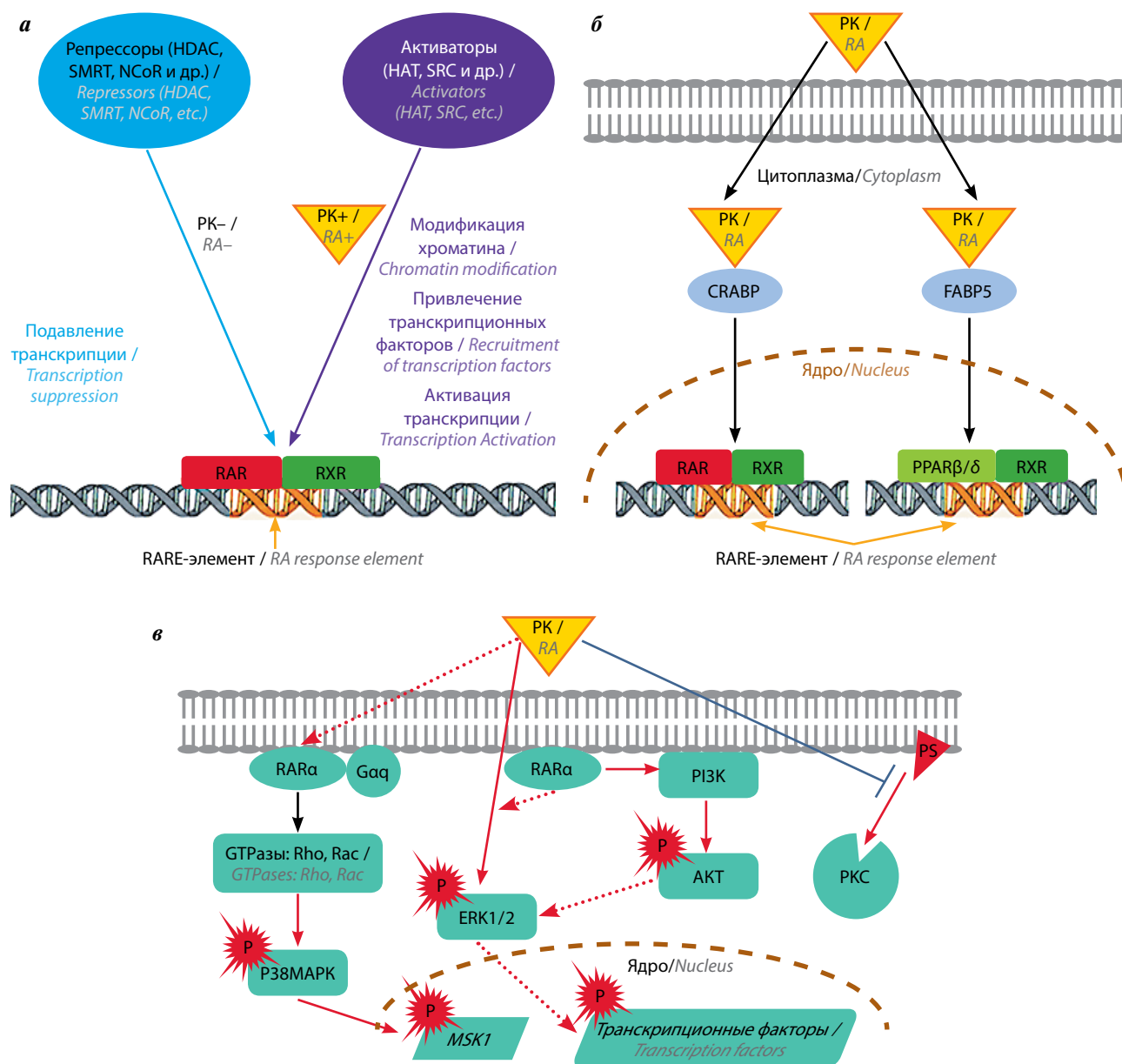
Ретиноевая кислота (РК) является первым открытым морфогеном и играет важнейшую роль в эмбриональном развитии, а также регулирует множество системных процессов в организме, включая ремоделирование тканей, различные этапы дифференцировки иммунных клеток и функционирования иммунной системы. Внутриклеточные функции РК также связаны со стимуляцией дифференцировки, проведением апоптотических сигналов и негативной регуляцией пролиферации. В клетке РК существует в виде нескольких изомеров, наиболее активными и представленными из которых являются полностью транс-РК (all-trans retinoic acid, ATRA), 9-цис-РК и 13-цис-РК. В клетке РК синтезируется из предшественников — ретинола (витамин А) и его эфиров, которые окисляются до ретинальдегида ферментами ретинолдегидрогеназами (алкогольдегидрогеназы ADH1, ADH2, ADH3 и ADH4), а затем до РК ферментами ретинальдегидрогеназами (RALDH1, RALDH2 и RALDH3). Удаление избытков РК в клетке осуществляется посредством ее катаболизма ферментами системы цитохромов, что приводит к образованию так называемых полярных метаболитов, которые являются физиологически менее активными соединениями. В связи с пролиферационной активностью в контексте канцерогенеза РК играет преимущественно антионкогенную (опухоль-супрессорную) роль. Для многих типов опухолей показано, что РК стимулирует дифференцировку, активирует процесс апоптоза, снижает способность к неприкрепленному росту, подавляет пролиферационную активность и ангиогенез [1]. Все это способствует снижению выживаемости опухолевых клеток и роста опухоли. В связи с этим в экспериментальной онкологии рассматриваются различные подходы к лечению онкологических заболеваний на основе РК, ее природных или синтетических аналогов и других ретиноидов. В настоящее время предпринимаются попытки использования РК для терапии таких нозологических форм, как саркома Капоши, плоскоклеточный рак головы и шеи, рак шейки матки, рак яичников, нейробластома, и других злокачественных опухолей. Наиболее успешно ATRA применяется в клинической практике для терапии острого промиелоцитарного лейкоза [2, 3]. Однако до сих пор использование РК в терапии злокачественных солидных опухолей сильно ограничено прежде всего за счет быстрого приобретения устойчивости малигнизированными клетками, а также вследствие большого количества побочных эффектов [4].

### Транскрипционная активность ретиноевой кислоты и молекулярные механизмы ее реализации

**Ядерные рецепторы РК.** Основным и наиболее известным механизмом, посредством которого РК

оказывает свое действие на клетки, является регуляция транскрипции. Считается, что РК регулирует активность более 500 генов (ретиноид-респонсивные гены). Функциональная активность РК реализуется посредством взаимодействия и активации ее ядерных рецепторов (см. рисунок, часть *a*). Эти белки относятся к семейству рецепторов стероидных и тиреоидных гормонов и представляют собой лиганд-индуцируемые транскрипционные факторы. Взаимодействие с лигандом приводит к активации ядерных рецепторов и стимуляции транскрипции генов, в промоторе которых имеются определенные последовательности — ретиноид-респонсивные элементы (retinoic acid response element, RARE). Основными типами рецепторов, связывающих РК, являются белки RAR (retinoic acid receptor), RXR (retinoid X receptor), а также PPAR (peroxisomal proliferator-activated receptor). Наиболее эффективным рецептором РК считается RAR $\alpha$  (наибольшая аффинность связывания с РК), с рецепторами RAR связывается транс-РК, а также 9-цис-РК, лигандом RXR является 9-цис-РК, которая является биологически менее активной формой РК. Среди рецепторов PPAR, по-видимому, только изоформа PPAR $\beta/\delta$  способна специфически связывать РК. Среди рецепторов RXR белок RXR $\alpha$  играет, вероятно, основную роль в передаче сигнала от РК. Экспрессия рецепторов РК регулируется самими рецепторами (создавая петли обратной связи), а также другими рецепторами того же семейства, такими как ER $\alpha$  [5]. Рецепторы RAR, как и PPAR $\beta/\delta$ , функционируют в виде гетеродимера с белками RXR. Гетеродимер RAR-RXR взаимодействует с последовательностью RARE в промоторе ретиноид-респонсивных генов. На сегодняшний день считается, что в отсутствие лиганда-агониста гетеродимер RXR-RAR связан с корепрессорами SMRT или NCoR, а также с другими факторами, подавляющими транскрипцию, такими как ДНК-метилтрансферазы или деацетилазы гистонов. Связывание с РК приводит к изменению конформации в лиганд-связывающем домене гетеродимера, что, в свою очередь, приводит к высвобождению из комплекса корепрессоров и связыванию коактиваторов транскрипции, таких как белки SRC-1, -2 и -3, а также гистоновых ацетилтрансфераз (НАТ) или гистоновых аргининметилтрансфераз. Это приводит к модификации гистонов, привлечению РНК-полимеразы II и активации транскрипции [1].

**Мишени транскрипционной активности РК.** Таргетные гены, активируемые РК, включают регуляторы транспорта и метаболизма ретиноидов, в том числе самой РК, например гены, кодирующие белки, связывающие ретинол (CRBP1/2), белки, связывающие РК (CRABP1/2), белки катаболизма РК (CYP26A1) и др. Среди мишеней РК много представителей генов,



Внутриклеточная активность ретиноевой кислоты: а – транскрипционная (каноническая) активность PK; б – участие белков, связывающих PK, в ее доставке к ядерным рецепторам; в – нетранскрипционная (неканоническая) активность PK. Красным цветом отмечены PK-зависимые пути активации протеинкиназ ERK1/2, AKT и p38MAPK. Пунктиром отмечены гипотетические механизмы. Звездочкой отмечено фосфорилирование, PS – фосфатидилсерин

Intracellular activity of retinoic acid: а – transcriptional (canonical) activity of RA; б – participation of RA-binding proteins in RA delivery to the nuclear receptors; в – non-transcriptional (noncanonical) activity of RA. The RA-dependent pathways of ERK1/2, AKT and p38MAPK protein kinases activation are indicated in red. Dotted lines indicate hypothetical mechanisms. Stars indicate phosphorylation, PS – phosphatidylserine

кодирующих гормоны (например, гормон роста), ферменты, вовлеченные в синтез различных стероидных гормонов (например, EDH17B2), мембранных рецепторов, эритропоэтин, рецептор интерлейкина-2 α, различные сигнальные белки и белки, регулирующие состав внеклеточного матрикса (тканевой активатор плазминогена, гены ламинина B1, β3-интегрин и др.). Также PK, по-видимому, контролирует экспрессию ряда белков, регулирующих важнейшие опухоле-

ассоциированные сигнальные пути, например NF-κB, интерферон γ, трансформирующий ростовой фактор β, фактор роста эндотелия сосудов, белки, обладающие опухоль-супрессорной активностью, такие как p53 и AP-2 [3, 6–9]. К мишеням PK-RAR относятся Btg2, p53-зависимый ген В-клеточной транслокации, гены каспазы-7 (PK-респонсивный ген) и каспазы-9 (опосредованная регуляция), а также гены активирующих их сериновых протеаз [10, 11]. Также показано

PK-зависимое уменьшение экспрессии некоторых генов, связанное со снижением пролиферации, например, Birc5 (сурвивин) и Bcl-2 [12]. К другим генам, регулируемым PK с помощью активации RAR, относятся TNF-зависимый белок TRAIL (Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand, или Apo-2L), C/EBPepsilon (CCAAT/enhancer binding protein), UBE1L (ubiquitin-activating enzyme E1-like protein) и др. [13–15]. Есть данные об PK-зависимом усилении экспрессии фактора транскрипции SOX9 и опухолевого супрессора PDCD4 [16, 17]. Экспрессия рецептора RAR $\beta$  также регулируется PK-RAR $\alpha$ . Считается, что этот белок обладает опухоль-супрессорной функцией в эпителиальных клетках [18]. В частности, показано, что экзогенная экспрессия RAR $\beta$  приводит к PK-зависимому и PK-независимому апоптозу и задержке прохождения клеточного цикла [19]. Известно также, что экспрессия RAR $\beta$  утрачивается или эпигенетически подавляется (метилирование промотора, компактизация хроматина) на ранних стадиях прогрессии в клетках некоторых типов солидных опухолей [20].

**Доставка PK к ядерным рецепторам.** Внутриклеточный транспорт гидрофобной молекулы PK и ее доставку к различным типам рецепторов осуществляют белки, принадлежащие к большому семейству внутриклеточных липидсвязывающих белков (iLBP, intracellular Lipid Binding Proteins). К этому семейству относят белки, связывающие PK, CRABP1 и CRABP2 (Cellular Retinoic Acid Binding Proteins 1 и 2), а также белки из группы FABPs (fatty acid binding proteins), которые связывают различные жирные кислоты и их производные. Среди белков FABP связывать PK способен преимущественно FABP5 и со значительно меньшей аффинностью – FABP4. Белки iLBP фактически представляют собой ядерно-цитоплазматические «шаттлы». В отсутствие лигандов они локализованы в цитоплазме, взаимодействие с лигандами вызывает конформационные изменения, приводящие либо к открытию первичной последовательности сигнала ядерной локализации, либо к формированию третичной пространственной структуры, «узнаваемой» как сигнал ядерной локализации (в случае белков CRABP) [21, 22]. В любом случае это создает возможность взаимодействия с  $\alpha$ -импортинами, и белки iLBP перемещаются в ядро, где связываются с соответствующим рецептором и «передают» PK (см. рисунок, часть б). Соответственно, взаимодействие PK с белками iLBP не только предохраняет ее от гидрофильной среды, но и опосредует ее внутриклеточные функции, доставляя PK соответствующим рецепторам и стимулируя их транскрипционную активность. Три белка суперсемейства iLBPs: CRABP2, FABP5 и FABP4 избирательно взаимодействуют с ядерными рецепторами RAR $\alpha$ , PPAR $\beta/\delta$  и PPAR $\gamma$  соответствен-

но и селективно проводят сигнал от PK к регулируемым ими генам. Несмотря на то, что FABP5 помимо PK может связывать и другие лиганды, только взаимодействие с PK приводит к его ядерной транслокации и дальнейшему связыванию с рецептором PPAR $\beta/\delta$  [23].

#### Неканоническая (нетранскрипционная) активность ретиноевой кислоты

Так называемая негеномная (non-genomic), или неканоническая, активность PK обнаружена не так давно и заключается в нетранскрипционной активации регуляторных белков и сигнальных путей, включая важнейшие протеинкиназы, известные своим участием в канцерогенезе и опухолевой прогрессии. Эта активность характеризуется быстрым эффектом (коротким временем экспозиции с PK от 5 до 60 мин), сохраняется при ингибировании транскрипции и/или транскрипционной активности рецепторов PK и осуществляется в цитоплазме или на плазматической мембране (ПМ). Так, в ряде работ показана кратковременная PK-зависимая стимуляция протеинкиназ АКТ и ERK1/2, не связанная с транскрипционной активностью ядерных рецепторов RAR. Такой эффект показан для клеток A549 немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) в двух работах одной группы авторов [24]. В двух работах другого авторского коллектива сходный феномен показан для клеток нейробластомы SH-SY-5Y [25, 26]. Наконец, в двух работах третьей группы исследователей эффект PK в отношении нетранскрипционной активации данных киназ продемонстрирован на модели эмбриональных стволовых клеток (ESC) и клеток карциномы яичника мыши (mouse ovarian cancer, MOVCAR), причем на этих моделях впервые показано участие белка CRABP1 в этом процессе [27, 28].

Данные указывают на то, что действие PK может быть реализовано по принципу, аналогичному действию стероидных гормонов, у которых есть ядерные рецепторы и активность которых может реализовываться по 2 основным механизмам, оказывая долгосрочный эффект, возникающий после нескольких часов (в среднем после 6 ч) и опосредуемый транскрипционной активностью рецепторов, а также кратковременное воздействие, не связанное с транскрипционной активацией.

Однако сходство описанного эффекта PK в указанных работах заключается лишь в демонстрации общего феномена неканонической активности в отношении активации клеточного сигналинга. В остальном данные перечисленных работ очень противоречивы как в отношении функционального значения для клетки (дифференцировка и апоптоз или, наоборот, стимуляция пролиферации и выживания), так и в отношении молекулярных механизмов,

опосредующих эту активацию (включая механизмы с участием RAR в непосредственной активации PI3K/АКТ или механизмы, независимые от RAR).

S.D. Persaud и соавт. выявили участие белка CRABP1 и даже показали, что CRABP1 необходим для RAR-независимой (происходящей в цитоплазме) активации ERK1/2 PK в эмбриональных стволовых клетках (ESC) [27]. Авторы обнаружили 2 типа стимуляции ERK1/2 под воздействием ATRA — краткосрочную (при воздействии ATRA на клетки менее 1 ч) и долгосрочную (более 8 ч). CRABP1 не влияет на долгосрочную активацию, но необходим для реализации кратковременной активации ERK1/2. Интересно, что эта активация не связана ни с ядерными рецепторами PK (что было доказано в экспериментах с подавлением их активности), ни с классическим способом передачи сигнала через мембранные рецепторы. Обнаруженная CRABP1-зависимая краткосрочная активация ERK1/2 приводила к накоплению в ядре белка p27, задержке клеточного цикла в G1-фазе и снижению пролиферации.

В более поздней работе с использованием той же экспериментальной модели этой же группой авторов был показан еще один механизм, с помощью которого PK и синтетические ретиноиды осуществляют CRABP1-зависимую нетранскрипционную активацию ERK1/2 и стимуляцию апоптоза. В частности, ERK1/2 способствует активации фосфатазы PP2A, которая стимулирует дефосфорилирование p27, что в итоге приводит к апоптозу или задержке клеток в G1-фазе клеточного цикла. Авторы делают вывод, что в отсутствие CRABP1 PK-зависимой активации ERK1/2 не происходит, как это было показано на клетках карциномы яичников мыши [27]. В этом отношении важно отметить, что, по нашим данным, в клетках НМРЛ при отсутствии эндогенной экспрессии данного белка эффект PK-зависимой краткосрочной активации как ERK1/2, так и АКТ имеет место и хорошо выражен (линии H460 и A549) [29]. Этот же эффект для клеток A549 показан и другими авторами [30].

Еще одним белком, активацию которого связывают с нетранскрипционной активностью PK, является MAP-киназа p38. PK-зависимая активация p38 показана двумя группами авторов на клетках рака молочной железы MCF7, рака шейки матки HeLa, эмбриональных фибробластах мыши MEF и F9 тератокарциномы мыши. В работах одной группы было показано, что PK по до сих пор малоизвестному механизму активирует фосфорилирование p38, что обеспечивает работу коактиваторов RAR, участвующих в ремоделировании и деконденсации хроматина [31]. Согласно позднее предложенному авторами сценарию нетранскрипционная PK-зависимая активация p38 является необходимым условием работы самих белков RAR и реализации канонической активности

PK. Активированная киназа p38 фосфорилирует киназу MSK1, которая, в свою очередь, фосфорилирует RAR $\alpha$  по остатку серина S369, расположенному в лиганд-связывающем домене, что позволяет осуществлять связывание белкового комплекса TFIИH (Transcription Factor II H) и последующее фосфорилирование остатка серина S77 в N-терминальном домене RAR $\alpha$  (2-е активирующее фосфорилирование, осуществляемое входящей в комплекс циклинзависимой киназой cdk7/cyclin H). Кроме того, MSK1 фосфорилирует гистон H3 по сайту S10. В итоге каскад фосфорилирований, инициированный p38-MSK1, обеспечивает транслокацию суперкомплекса RAR $\alpha$ /TFIИH к RARE-элементам промоторов целевых генов и активирует их транскрипцию. Таким образом, например, происходит регуляция экспрессии гена *CYP26A1*. Важно, что опухолевые клетки, в которых происходит дерегулирование p38MAPK/MSK1-пути, не отвечают на стимуляцию PK. Соответственно, PK-резистентные клетки рака молочной железы SKBR3, в отличие от чувствительных клеток MCF7, характеризовались отсутствием PK-зависимой активации p38MAPK/MSK1-каскада и усиления экспрессии *CYP26A1* в ответ на PK [32].

По данным авторов, таким же образом может происходить и активация экспрессии RAR $\beta$ , обладающего опухоль-супрессорными функциями, эпигенетическое подавление которого связывают с PK-резистентностью. Согласно данным другой работы этих же авторов описанные события происходят на ПМ. PK стимулирует пул молекул RAR $\alpha$ , локализованных в липидных рафтах, к образованию комплекса с заякоренным там белком G $\alpha$ q (G protein alpha), что является необходимым условием активации p38 в ответ на PK. При этом PK-резистентные клетки рака молочной железы (BT474, SKBR3, MDA-MB453 и MDA-MB361) характеризовались отсутствием или снижением активации p38MAPK, а присутствующий на мембранных рафтах RAR $\alpha$  не связывался с белком G $\alpha$ q. Эти данные указывают на то, что активация p38 может быть важнейшим фактором, определяющим чувствительность клеток к PK и обеспечивающим ее каноническую активность [33].

В то же время данные других авторов, которые также обнаружили эффект PK-зависимой активации p38 на клетках MCF7 (и линии острого промиелоцитарного лейкоза), с одной стороны, подтверждают его отсутствие в PK-резистентных клетках, что указывает на необходимость активации p38 для проведения канонической активности PK и поддержания PK-чувствительности. С другой стороны, авторы показали, что PK-зависимая активация p38 приводит к негативной регуляции дифференцировки (снижает классический эффект PK). Более того, подавление PK-зависимой активации p38 не только не усиливало

экспрессию ретиноид-респонсивных генов, но и приводило к усилению дифференцировки и РК-зависимого подавления пролиферации [34]. По данным авторов, эффект РК в отношении активации p38 реализовывался посредством RAR-зависимой стимуляции малой ГТФазы Ras и сопровождался активностью MAPKAPK-2 киназы.

Интересно, что в цитируемой ранее работе по РК-зависимой нетранскрипционной активации киназы АКТ в клетках НМРЛ A549 авторы предполагают другой механизм с участием RAR $\alpha$  и Ras. Согласно этим данным белок RAR $\alpha$  изначально не присутствует на ПМ, но транслоцируется туда в ответ на стимуляцию РК, где активирует АКТ с последующей активацией Ras [24]. При этом, как и в предыдущей цитируемой работе по активации p38, активация АКТ приводит к обратному эффекту — блокирует классическую транскрипционную активность РК, усиливает выживание и инвазивность клеток и стимулирует РК-резистентность клеток НМРЛ. Авторы предлагают механизм возникновения РК-резистентности клеток НМРЛ в результате неканонической активности РК, приводящей к нетранскрипционной активации АКТ. Согласно данной модели ATRA связывает RAR $\alpha$ , стимулируя его транслокацию к ПМ, мембранный RAR $\alpha$  рекрутирует и активирует PI3K-АКТ-сигнальный комплекс, что приводит, с одной стороны, к активации малой ГТФазы Ras и Ras-зависимой стимуляции выживания и инвазивной активности, с другой — к репрессии транскрипции ядерного RAR $\alpha$  и подавлению экспрессии RAR $\alpha$ -зависимых мишеней РК, обладающих опухоль-супрессорной активностью, таких как RAR $\beta$ 2 и p53. К сходному результату (стимуляция роста, выживания и подвижности клеток) приводила и обнаруженная той же группой авторов РК-зависимая активация ERK1/2, опосредуемая нетранскрипционной активностью RAR $\alpha$  [30].

В клетках нейробластомы, одной из двух нозологий, для которых был показан эффект РК-зависимой нетранскрипционной активации АКТ, согласно данным одних авторов, активация PI3K/АКТ-пути также способствовала выживанию клеток и снижению их дифференцировки [25]. По данным авторов другого исследования на тех же клетках нейробластомы,

РК-зависимая нетранскрипционная активация PI3K/АКТ и ERK1/2 стимулировала дифференцировку [26].

Еще одним механизмом, посредством которого осуществляется негеномная активность РК, является, по-видимому, негативная регуляция РК $\alpha$ , серин-треониновой киназы, участвующей в регуляции важнейших клеточных функций, включая рост, дифференцировку, апоптоз и старение, а также активно задействованной в опухолевой прогрессии. В нескольких работах показано, что ATRA способна непосредственно и с высокой аффинностью связывать данную протеинкиназу [35]. Это взаимодействие приводит к подавлению активности РК $\alpha$  *in vitro*, предположительно за счет конкуренции за связывание с фосфатидилсеринем, одним из основных активаторов данной киназы. Такой эффект РК и других ретиноидов может вносить свой вклад в реализацию опухоли-супрессорной активности РК, включая подавление пролиферации и стимуляцию дифференцировки [36]. На рисунке (часть в) схематично представлены основные мишени нетранскрипционной активности РК и пути их активации/подавления.

### Заключение

Как видно из представленных данных (а это практически вся имеющаяся информация по этому вопросу), ситуация с РК-зависимой нетранскрипционной активацией важнейших регуляторных сигнальных путей очень малопонятна и противоречива как в отношении молекулярных механизмов, так и в отношении эффекта на свойства злокачественных клеток и на формирование РК-резистентности. Возможно, это объясняется очень ограниченным числом экспериментальных моделей и отсутствием (за редким исключением) сравнения РК-чувствительных и РК-резистентных клеток в отношении неканонической активности РК. Кроме того, представляется важным исследовать, насколько эффект неканонической активности РК в отношении различных киназ присутствует одновременно в одних и тех же клетках. Очевидно, что нетранскрипционная активация важнейших сигнальных путей может играть важную роль в реализации активности РК, а также в регуляции чувствительности/резистентности клеток к РК как терапевтическому агенту, что требует дальнейшего подробного изучения.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Di Masi A., Leboffe L., de Marinis E. et al. Retinoic acid receptors: from molecular mechanisms to cancer therapy. *Mol Aspects Med* 2015;41:1–115. DOI: 10.1016/j.mam.2014.12.003.
2. Chen M.-C., Hsu S.-L., Lin H., Yang T.-Y. Retinoic acid and cancer treatment. *Biomedicine (Taipei)* 2014;4(4):22–2. DOI: 10.7603/s40681-014-0022-1.
3. Connolly R.M., Nguyen N.K., Sukumar S. Molecular pathways: current role and future directions of the retinoic acid pathway in cancer prevention and treatment. *Clin Cancer Res* 2013;19(7):1651–9. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-3175.
4. Chlapek P., Slavikova V., Mazanek P. et al. Why differentiation therapy sometimes fails: molecular mechanisms of resistance to retinoids. *Int J Mol Sci* 2018;19(1):132. DOI: 10.3390/ijms19010132.

5. Ross-Innes C.S., Stark R., Holmes K.A. et al. Cooperative interaction between retinoic acid receptor- $\alpha$  and estrogen receptor in breast cancer. *Genes Dev* 2010;24(2):171–82. DOI: 10.1101/gad.552910.
6. Al Tanoury Z., Piskunov A., Rochette-Egly C. Vitamin A and retinoid signaling: genomic and nongenomic effects. *J Lipid Res* 2013;54(7):1761–75. DOI: 10.1194/jlr.R030833.
7. Mrass P., Rendl M., Mildner M. et al. Retinoic acid increases the expression of p53 and proapoptotic caspases and sensitizes keratinocytes to apoptosis. *Cancer Res* 2004;64(18):6542–8. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-1129.
8. Zhang H., Rosdahl I. Expression profiles of p53, p21, bax and bcl-2 proteins in all-trans-retinoic acid treated primary and metastatic melanoma cells. *Int J Oncol* 2004;25(2):303–8.
9. Luscher B., Mitchell P.J., Williams T., Tjian R. Regulation of transcription factor AP-2 by the morphogen retinoic acid and by second messengers. *Genes Dev* 1989;3(10):1507–17. DOI: 10.1101/gad.3.10.1507.
10. Donato L.J., Suh J.H., Noy N. Suppression of mammary carcinoma cell growth by retinoic acid: the cell cycle control gene Btg2 is a direct target for retinoic acid receptor signaling. *Cancer Res* 2007;67(2):609–15. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-0989.
11. Donato L.J., Noy N. Suppression of mammary carcinoma growth by retinoic acid: proapoptotic genes are targets for retinoic acid receptor and cellular retinoic acid-binding protein II signaling. *Cancer Res* 2005;65(18):8193–9. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-1177.
12. Raffo P., Emionite L., Colucci L. et al. Retinoid receptors: pathways of proliferation inhibition and apoptosis induction in breast cancer cell lines. *Anticancer Res* 2000;20(3a):1535–43.
13. Altucci L., Rossin A., Raffelsberger W. et al. Retinoic acid-induced apoptosis in leukemia cells is mediated by paracrine action of tumor-selective death ligand TRAIL. *Nat Med* 2001;7(6):680–6. DOI: 10.1038/89050.
14. Kitareewan S., Pitha-Rowe I., Sekula D. et al. UBE1L is a retinoid target that triggers PML/RAR $\alpha$  degradation and apoptosis in acute promyelocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99(6):3806–11. DOI: 10.1073/pnas.052011299.
15. Park D.J., Chumakov A.M., Vuong P.T. et al. CCAAT/enhancer binding protein epsilon is a potential retinoid target gene in acute promyelocytic leukemia treatment. *J Clin Invest* 1999;103(10):1399–408. DOI: 10.1172/JCI2887.
16. Afonja O., Juste D., Das S. et al. Induction of PDCD4 tumor suppressor gene expression by RAR agonists, antiestrogen and HER-2/neu antagonist in breast cancer cells. Evidence for a role in apoptosis. *Oncogene* 2004;23(49):8135–45. DOI: 10.1038/sj.onc.1207983.
17. Afonja O., Raaka B.M., Huang A. et al. RAR agonists stimulate SOX9 gene expression in breast cancer cell lines: evidence for a role in retinoid-mediated growth inhibition. *Oncogene* 2002;21(51):7850–60. DOI: 10.1038/sj.onc.1205985.
18. De Thè H., Vivanco-Ruiz M.M., Tiollais P. et al. Identification of a retinoic acid responsive element in the retinoic acid receptor beta gene. *Nature* 1990;343(6254):177–80. DOI: 10.1038/343177a0.
19. Liu Y., Lee M.O., Wang H.G. et al. Retinoic acid receptor beta mediates the growth-inhibitory effect of retinoic acid by promoting apoptosis in human breast cancer cells. *Mol Cell Biol* 1996;16(3):1138–49. DOI: 10.1128/MCB.16.3.1138.
20. Sirchia S.M., Ren M., Pili R. et al. Endogenous reactivation of the RARbeta2 tumor suppressor gene epigenetically silenced in breast cancer. *Cancer Res* 2002;62(9):2455–61.
21. Tchekina E.M. Retinoic Acid Binding Proteins and Cancer: Similarity or Polarity? *Cancer Therapy & Oncology Int J* 2017;8(2):555733. DOI: 10.19080/ctoij.2017.08.555733.
22. Чевкина Е.М., Фаворская И.А. Белки CRABP – родственники или однофамильцы? *Успехи молекулярной онкологии* 2015;2(2):6–16. [Tchekina E.M., Favorskaya I.A. CRABP proteins – relatives or homonyms? *Uspekhi molekulyarnoy onkologii* = *Advances in Molecular Oncology* 2015;2(2):6–16. (In Russ.)].
23. Noy N. Non-classical transcriptional activity of retinoic acid. *Subcell Biochem* 2016;81:179–99. DOI: 10.1007/978-94-024-0945-1\_7.
24. Garcia-Regalado A., Vargas M., Garcia-Carranca A. et al. Activation of Akt pathway by transcription-independent mechanisms of retinoic acid promotes survival and invasion in lung cancer cells. *Mol Cancer* 2013;12:44. DOI: 10.1186/1476-4598-12-44.
25. López-Carballo G., Moreno L., Masiá S. et al. Activation of the phosphatidylinositol 3-kinase/akt signaling pathway by retinoic acid is required for neural differentiation of SH-SY5Y human neuroblastoma cells. *J Biol Chem* 2002;277(28):25297–304. DOI: 10.1074/jbc.m201869200.
26. Masiá S., Alvarez S., de Lera A.R., Baretino D. Rapid, nongenomic actions of retinoic acid on phosphatidylinositol-3-kinase signaling pathway mediated by the retinoic acid receptor. *Mol Endocrinol* 2007;21(10):2391–402. DOI: 10.1210/me.2007-0062.
27. Persaud S.D., Lin Y.-W., Wu C.-Y. et al. Cellular retinoic acid binding protein I mediates rapid non-canonical activation of ERK1/2 by all-trans retinoic acid. *Cell Signal* 2013;25(1):19–25. DOI: 10.1016/j.cellsig.2012.09.002.
28. Persaud S.D., Park S.W., Ishigami-Yuasa M. et al. Erratum: Corrigendum: All trans-retinoic acid analogs promote cancer cell apoptosis through non-genomic Crabp1 mediating ERK1/2 phosphorylation. *Sci Rep* 2016; 6(1):27678. DOI: 10.1038/srep27678.
29. Еникеев А.Д., Комельков А.В., Зборовская И.Б. и др. Неканоническая активность ретиноевой кислоты в отношении активации протеинкиназ в трансформированных клетках различного происхождения. *Успехи молекулярной онкологии* 2018; 5(4):127–30. DOI: 10.17650/2313-805X-2018-5-4-127-130. [Enikeev A.D., Komelkov A.V., Zborovskaya I.B. et al. Non-canonical activity of retinoic acid in relation to the activation of protein kinases in transformed cells of different origin. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii* = *Advances in Molecular Oncology* 2018;5(4):127–30. (In Russ.)].
30. Quintero Barceinas R.S., Garcia-Regalado A., Aréchaga-Ocampo E. et al. All-Trans Retinoic Acid Induces Proliferation, Survival, and Migration in A549 Lung Cancer Cells by Activating the ERK Signaling Pathway through a Transcription-Independent Mechanism. *Biomed Res Int* 2015;2015:404368. DOI: 10.1155/2015/404368.
31. Gianni M., Parrella E., Raska I. et al. P38MAPK-dependent phosphorylation and degradation of SRC-3/AIB1 and RAR $\alpha$ -mediated transcription. *EMBO J* 2006;25(4):739–51. DOI: 10.1038/sj.emboj.7600981.
32. Bruck N., Vitoux D., Ferry C. et al. A coordinated phosphorylation cascade initiated by MSK1 directs RAR  $\alpha$  recruitment to target gene promoters. *Nature Precedings* 2008. DOI: 10.1038/npre.2008.2107.1.
33. Piskunov A., Rochette-Egly C. A retinoic acid receptor RAR $\alpha$  pool present in membrane lipid rafts forms complexes with G protein  $\alpha$ Q to activate p38MAPK.

- Oncogene 2011;31(28):3333–45.  
DOI: 10.1038/onc.2011.499.
34. Alsayed Y., Uddin S., Mahmud N. et al. Activation of Rac1 and the p38 mitogen-activated protein kinase pathway in response to all-trans-retinoic acid. J Biol Chem 2000;276(6):4012–9.  
DOI: 10.1074/jbc.m007431200.
35. Ochoa W.F., Torrecillas A., Fita I. et al. Retinoic Acid Binds to the C2-Domain of Protein Kinase Ca $\gamma$ . Biochemistry 2003;42(29):8774–9.  
DOI: 10.1021/bi034713g.
36. Radomska-Pandya A., Chen G., Czernik P.J. et al. Direct interaction of all-trans-retinoic acid with protein kinase C (PKC). J Biol Chem 2000;275(29):22324–30.  
DOI: 10.1074/jbc.m907722199.

**Вклад авторов**

А.Д. Еникеев, А.В. Комельков: написание текста статьи;  
А.Д. Еникеев, М.Е. Аксельрод: подбор и анализ публикаций по теме статьи;  
А.В. Комельков, М.Е. Аксельрод: оформление статьи;  
Е.М. Чевкина: разработка плана, дизайна статьи, анализ рукописи.

**Authors' contributions**

A.D. Enikeev, A.V. Komelkov: article writing;  
A.D. Enikeev, M.E. Akselrod: reviewing of publications of the article's theme;  
A.V. Komelkov, M.E. Akselrod: submitting articles;  
E.M. Tchekina: developing the research design, article analysis.

**ORCID авторов/ORCID of authors**

А.Д. Еникеев/A.D. Enikeev: <https://orcid.org/0000-0002-7628-8616>  
А.В. Комельков/A.V. Komelkov: <https://orcid.org/0000-0003-0766-163X>  
М.Е. Аксельрод/M.E. Akselrod: <https://orcid.org/0000-0003-2778-7870>  
Е.М. Чевкина/E.M. Tchekina: <https://orcid.org/0000-0001-8837-7969>

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The author declares no conflict of interest.

**Финансирование.** Исследование проведено при поддержке Российского Фонда фундаментальных исследований, проект № 19-015-00027 А.

Financing. The study was performed with the support of Russian Foundation for Basic Research, project No 19-015-00027 A.

Статья поступила: 07.08.2019. Принята в печать: 28.10.2019.

Article submitted: 07.08.2019. Accepted for publication: 28.10.2019.