

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
НАУКИ ИНСТИТУТ ТЕОРЕТИЧЕСКОЙ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ
БИОФИЗИКИ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи

Ломовская Яна Владимировна

**Резистентность клеток острого миелоидного лейкоза
к TRAIL-индуцированной гибели при дифференцировке
в условиях гиперклеточного провоспалительного микроокружения**

1.5.22. – Клеточная биология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
Кандидат биологических наук,
Фадеев Р.С.

Пущино – 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	5
ВВЕДЕНИЕ	6
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	11
1.1 Острый миелоидный лейкоз: происхождение заболевания	11
1.1.1 Классификация острого миелоидного лейкоза	13
1.1.2 Диагностика и терапия острого миелоидного лейкоза	16
1.1.3 Лекарственная устойчивость острого миелоидного лейкоза	20
1.1.4 Провоспалительное микроокружение при остром миелоидном лейкозе	24
1.2 Перспективы и проблемы применения препаратов на основе TRAIL в лечении злокачественных новообразований	26
1.2.1 Сигнальный путь TRAIL	26
1.2.2. Препараты на основе TRAIL	29
1.3 Динамика проапоптотических TRAIL-рецепторов и устойчивость опухолевых клеток к TRAIL-индуцированному апоптозу	31
1.3.1 Транскрипционная регуляция экспрессии DR4 и DR5	31
1.3.2 Посттрансляционные модификации DR4 и DR5	32
1.3.3 Участие липидных рафтов в регуляции динамики проапоптотических TRAIL-рецепторов на внешней клеточной мембране	36
1.3.4 Сенситизация клеток к TRAIL-индуцированной гибели с помощью индукции экспрессии проапоптотических рецепторов DR4 и DR5	37
2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	39
2.1 Материалы	39
2.2. Методы	39
2.2.1 Клеточные культуры	39
2.2.2 Протокол получения белка izTRAIL	40
2.2.3 Анализ пролиферативной активности и ДНК-цитометрия	40
2.2.4 Анализ коротких tandemных повторов (STR)	41
2.2.5 Секвенирование транскриптомов клеток	41
2.2.6 Анализ дифференциальной экспрессии генов	41
2.2.7 Количественная ПЦР с обратной транскрипцией	42
2.2.8 Анализ жизнеспособности	43
2.2.9 Анализ морфологии клеток	43
2.2.10 Анализ адгезии клеток	44
2.2.11 Анализ фагоцитарной активности	44

2.2.12 Анализ окислительной активности, продукции NO, содержания митохондрий и лизосом	44
2.2.13 Иммунофенотипирование и анализ экспрессии рецепторов к TRAIL	45
2.2.14 Иммунофлуоресцентный анализ продукции цитокинов	45
2.2.15 Статистическая обработка данных	46
3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	47
3.1 Получение клеток ОМЛ, способных к адгезии и распластыванию на ВКМ, в условиях долговременной трехмерной суспензионной культуры высокой плотности	47
3.2 Характеристика клеток ОМЛ, способных к адгезии и распластыванию на ВКМ, полученных в условиях долговременной трехмерной суспензионной культуры высокой плотности	49
3.2.1 Молекулярно-генетическая идентификации клеток THP-1ad	49
3.2.2 Морфологическая характеристика клеток THP-1ad	51
3.2.3 Исследование адгезии клеток THP-1ad к внеклеточному матриксу	53
3.2.4 Изучение пролиферативной активности клеток THP-1ad	54
3.2.5 Иммунофенотипирование клеток THP-1ad	55
3.2.6 Исследование фагоцитарной активности клеток THP-1ad	56
3.2.7 Оценка относительного размера и гранулярности цитоплазмы клеток THP-1ad	58
3.2.8 Анализ содержания митохондрий и лизосом в клетках THP-1ad	58
3.2.9 Исследование продукции АФК и оксида азота клетками THP-1ad	59
3.2.10 Анализ продукции цитокинов клетками THP-1ad	60
3.3 Исследование устойчивости макрофагоподобных клеток ОМЛ THP-1ad к TRAIL-индуцированной гибели	64
3.4 Изучение механизмов устойчивости макрофагоподобных клеток ОМЛ THP-1ad к TRAIL-индуцированной гибели	66
3.4.1 Идентификация наиболее активированных сигнальных путей в макрофагоподобных клетках THP-1ad	66
3.4.2 Идентификация и функциональная аннотация дифференциально экспрессируемых генов с наибольшим изменением экспрессии у макрофагоподобных клеток THP-1ad	71
3.4.3 Анализ сетей взаимодействия продуктов ДЭГ и идентификация генов-концентраторов у макрофагоподобных клеток THP-1ad	75
3.4.4 Анализ сетей взаимодействия продуктов идентифицированных генов-концентраторов с представителями семейств IAP, BCL-2 и рецепторами к TRAIL	77
3.5 Оценка возможности подавления устойчивости макрофагоподобных клеток ОМЛ THP-1ad к TRAIL-индуцированной гибели	82

3.5.1 Анализ влияния ингибирования адгезии клеток THP-1ad на устойчивость к TRAIL-индуцированной гибели.....	82
3.5.2 Изучение влияния низкомолекулярных ингибиторов тирозин-специфичных протеинкиназ, химиотерапевтических и противовоспалительных препаратов на устойчивость клеток THP-1ad к TRAIL-индуцированной гибели.....	82
3.5.3 Изучение влияния низкомолекулярных индукторов экспрессии проапоптотических TRAIL рецепторов на устойчивость клеток THP-1ad к TRAIL-индуцированной гибели ...	85
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	88
ВЫВОДЫ	91
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	92
СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ.....	120
БЛАГОДАРНОСТИ	123

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ОМЛ – острый миелоидный лейкоз;

FLT3 - рецепторная *fms*-подобная тирозинкиназа 3;

TRAIL - цитокин семейства факторов некроза опухоли, лиганд, вызывающий апоптоз;

ЛСК – лейкозные стволовые клетки;

МОБ – минимальная остаточная болезнь;

ИЛ-1 β – интерлейкин 1 β ;

PMA – форбол-12-миристан-13-ацетат;

SAHA - субериил-3-аминопиридинамид гидроксамовой кислоты;

CD – кластер дифференцировки;

ФНО – фактор некроза опухоли;

DR – рецептор смерти;

СИФ – средняя интенсивность флуоресценции;

GSEA - анализ обогащения по функциональной принадлежности

ТФ – транскрипционный фактор

ОТ-ПЦР – количественная полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией

ББВ – белок-белковые взаимодействия;

FDR – частота ложноположительных результатов;

ДЭГ - дифференциально экспрессируемые гены;

IAP – белки, ингибирующие апоптоз;

BCL-2 – белки В-клеточной лимфомы 2;

НПО – нормализованный показатель обогащения;

GO - генная онтология;

KEGG - Киотская энциклопедия генов и геномов;

WP – база данных WikiPathways;

MF - молекулярные функции;

BP - биологические процессы;

CC - клеточные компоненты;

RGD-пептид - трипептид, состоящий из L-аргинина, глицина и L-аспарагиновой кислоты;

ЛПС – липополисахарид.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность. Острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) является злокачественным новообразованием, характеризующимся крайне низкой излечиваемостью и выживаемостью, около 30 % пациентов с диагнозом ОМЛ достигают пятилетней выживаемости (Kantarjian et al., 2021; Short, Rytting, Cortes, 2018). Для ОМЛ характерна неконтролируемая экспансия и накопление (гиперклеточность) лейкозных бластов в костном мозге. Костный мозг при ОМЛ приобретает характеристики поврежденной ткани с признаками «стерильного» (без инфекционного) хронического воспаления (Cook, Luo, Rauh, 2020; Lasry et al., 2022). Воспалительный процесс в костном мозге способствует уклонению опухолевых клеток от гибели и является маркером плохого прогноза течения заболевания (Récher, 2021; Ellegast et al., 2022; Zhong et al., 2022). В свою очередь, хорошо известно, что активация провоспалительных сигнальных путей приводит к миелоидной дифференцировке нормальных «неопухолевых» моноцитов и гемопоэтических клеток-предшественников (Hernandez et al., 2020; Maltby et al., 2014; Mysore et al., 2022; Pietras et al., 2016; Villar et al., 2023). В случае клеток ОМЛ провоспалительная активация с помощью бактериальных липополисахаридов (ЛПС) также способна индуцировать их дифференцировку в макрофагоподобные клетки (Kim, Hwang, Lee, 2022). В последнее время появляются данные о том, что дифференцированные, обладающие «зрелым» фенотипом клетки ОМЛ могут не только подавлять активность противоопухолевого иммунитета, но и являться более устойчивыми к действию широкого ряда противоопухолевых препаратов (Bottomly et al., 2022; Van Galen et al., 2019; Yoyen-Ermis et al., 2019). Таким образом, исследование возможности дифференцировки клеток ОМЛ в условиях «стерильного» воспалительного микроокружения представляет собой актуальную задачу прежде всего для идентификации новых механизмов развития как лекарственной устойчивости опухолевых клеток, так и устойчивости к компонентам противоопухолевого иммунитета.

Одним из ключевых молекулярных компонентов противоопухолевого иммунитета является родственный ФНО, индуцирующий апоптоз лиганд TRAIL. Цитокин TRAIL связывается с четырьмя мембраносвязанными рецепторами: проапоптотическими DR4 и DR5, антиапоптотическими DcR1 и DcR2, а также с растворимым антиапоптотическим «рецептором» остеопротегерином (Montinaro, Walczak, 2023). Уникальность цитокина TRAIL заключается в селективной индукции гибели злокачественно трансформированных клеток и в отсутствии цитотоксического действия по отношению к здоровым клеткам организма, прежде всего к иммунокомпетентным клеткам (макрофагам, дендритным

клеткам, лимфоцитам) (Gunalp et al., 2023; Liguori et al., 2016). Однако развитие у опухолевых клеток механизмов защиты от TRAIL-индуцированной гибели, и тем самым приобретение способности избегать действия противоопухолевого иммунного надзора, способствует возникновению и прогрессии ОМЛ, а также осложняет разработку таргетной терапии на основе TRAIL.

Ранее в рамках исследования роли микроокружения в лекарственной устойчивости клеток ОМЛ нами была представлена *in vitro* модель, имитирующая условия микроокружения лейкозных клеток при «стерильном» хроническом воспалении – долговременные трехмерные культуры клеток ОМЛ высокой плотности (гиперклеточности) (Kobyakova et al., 2022). В данной работе проведено изучение дифференцировки клеток ОМЛ в долговременной трехмерной культуре высокой плотности, с последующим исследованием их устойчивости к цитотоксическому действию ключевого молекулярного эффектора противоопухолевого иммунитета - цитокину TRAIL.

Целью работы является изучение устойчивости клеток ОМЛ к TRAIL-индуцированной гибели при дифференцировке в условиях гиперклеточного провоспалительного микроокружения *in vitro*.

В соответствии с целью были поставлены следующие **задачи**:

1. Оценка возможности появления и характеристика дифференцированных TRAIL-резистентных клеток ОМЛ в условиях, имитирующих провоспалительное гиперклеточное микроокружение *in vitro*;
2. Изучение механизмов устойчивости дифференцированных клеток ОМЛ к TRAIL-индуцированной гибели;
3. Исследование возможности подавления устойчивости дифференцированных клеток ОМЛ к TRAIL-индуцированной гибели.

Новизна работы. В работе впервые показана возможность макрофагоподобной дифференцировки клеток ОМЛ в условиях, имитирующих клеточное микроокружение при «стерильном» хроническом воспалении - долговременной трехмерной гиперклеточной культуре. Дифференцированные макрофагоподобные клетки ОМЛ обладают устойчивостью к TRAIL-индуцированной гибели. Основными механизмами устойчивости макрофагоподобных клеток ОМЛ к действию TRAIL являются потеря проапоптотических TRAIL-рецепторов и повышенная экспрессия ингибиторов апоптоза семейства IAP. Показана возможность подавления устойчивости макрофагоподобных клеток ОМЛ к TRAIL-индуцированной гибели с помощью индукторов поверхностной экспрессии TRAIL-рецепторов.

Теоретическая и практическая значимость работы. Показана принципиальная возможность подавления резистентности дифференцированных макрофагоподобных клеток ОМЛ к TRAIL-индуцированной гибели при использовании таргетных соединений, таких индукторы поверхностной экспрессии проапоптотических TRAIL-рецепторов. Это представляет интерес для разработки новых стратегий подавления первичной резистентности клеток ОМЛ при опухолевой гиперплазии костного мозга.

Методология и методы исследования. Методологической основой диссертационного исследования является применение современных методик, комплексного анализа и системного подхода в изучении исследуемой темы. Работа выполнена на постоянных клеточных линиях острого миелоидного лейкоза человека и нативных макрофагах моноцитарного происхождения. Для достижения поставленной цели и решения конкретных задач в ходе работы были использованы современные методы клеточной биологии, биохимии, биофизики, молекулярной биологии и биоинформатики, такие как, проточная цитометрия, конфокальная микроскопия, спектрофото- и флуорометрия, иммунофлуоресцентный анализ, количественная ПЦР, секвенирование РНК и анализ дифференциальной экспрессии генов с использованием пакета актуальных программ. Обработку данных проводили с помощью специализированного программного обеспечения, для статистического анализа результатов использовали односторонний ANOVA с поправкой на множественное тестирование Холма-Сидака и тест Вальда с поправкой на множественное тестирование Беньямини-Хохберга.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. В *in vitro* модели, имитирующей условия провоспалительного микроокружения, долговременной трехмерной культуре клеток ОМЛ высокой плотности, образуются TRAIL-резистентные клетки с макрофагоподобным фенотипом.
2. Ингибирование экспрессии проапоптотических TRAIL-рецепторов DR4 и DR5, наряду с повышением экспрессии антиапоптотического представителя семейства IAP - cIAP2, приводит к резистентности макрофагоподобных клеток ОМЛ к TRAIL-индуцированной гибели.
3. ИЛ-1 β -опосредованная активация провоспалительных сигнальных путей может регулировать формирование TRAIL-резистентности у макрофагоподобных клеток ОМЛ.

4. Применение низкомолекулярных индукторов экспрессии проапоптотических TRAIL-рецепторов подавляет резистентность макрофагоподобных клеток ОМЛ к TRAIL-индуцированной гибели.

Достоверность полученных результатов диссертации подтверждается достаточным количеством повторов проводимых экспериментов и применением сертифицированного научного оборудования, высококачественных расходных материалов и современных методик при проведении экспериментов. Анализ результатов выполнен с применением пакетов статистического анализа (MS Excel, SigmaPlot), а также языка программирования Python с использованием специализированных библиотек для работы с данными: numpy, pandas, scipy и scikit-learn. Результаты, полученные в работе, статистически достоверны и воспроизводимы. Статистическую обработку данных проводили с использованием дисперсионного анализа ANOVA с поправкой на множественное тестирование Хомла-Сидака и теста Вальда с поправкой на множественное тестирование Беньямини-Хохберга.

Апробация. Основные результаты диссертационной работы были представлены на X Всероссийском с международным участием Конгрессе молодых ученых-биологов «Симбиоз-2017» (Казань, 2017), Конференции «Экспериментальная и теоретическая биофизика» (Пушино, 2017, 2021, 2022), Всероссийской конференции по молекулярной онкологии (Москва, 2017, 2019), Международной Пушинской школе-конференции молодых ученых «Биология – наука XXI века» (Пушино, 2017, 2018, 2019), Международной научной конференции молодых ученых «Фундаментальные исследования и инновации в молекулярной биологии, биотехнологии, биохимии» (Алматы, 2019), Отчетной годовой конференции ИТЭБ РАН, посвященной Дню Российской науки (Пушино, 2020), XXVI Всероссийской конференции молодых ученых с международным участием «Актуальные Проблемы Биомедицины - 2020» (Санкт-Петербург, 2020), XI Съезде онкологов и радиологов стран СНГ и Евразии (Казань, 2020), III Объединённом научном форуме физиологов, биохимиков и молекулярных биологов (Сочи, 2021), IV Международной научной конференции «Наука Будущего – Наука Молодых» (Москва, 2021).

Личный вклад автора. Научные положения и выводы диссертации базируются на результатах собственных исследований автора и на данных, полученных при его непосредственном участии на всех этапах исследования, включая планирование, выполнение экспериментов, обработку полученных данных, а также оформление и

публикацию результатов. Материалы, вошедшие в совместные публикации, обсуждались с соавторами и руководителем диссертационной работы.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 19 печатных работ, в том числе 5 статей в журналах, рекомендованных ВАК РФ.

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Острый миелоидный лейкоз: происхождение заболевания

Острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) представляет собой гетерогенное заболевание, характеризующееся накоплением злокачественных, низкодифференцированных миелоидных клеток в костном мозге и периферической крови. ОМЛ представляет собой опухолевое заболевание, 5-летняя выживаемость которого по-прежнему составляет менее 30%. Генетические мутации выявляются более чем в 97% случаев ОМЛ, часто при отсутствии какой-либо крупной хромосомной аномалии (Ley et al., 2013). Исследования на рубеже веков привели к принятию «двухударной» модели лейкемогенеза, которая предлагает основу для классификации различных мутаций, связанных с ОМЛ. Эта модель предполагает, что для инициации ОМЛ требуется два типа генетических повреждений — мутации I типа, которые вызывают пролиферацию и aberrантное самообновление клеток, и мутации II типа, которые устанавливают блок дифференцировки (Kihara et al., 2014; Takahashi, 2011). Хотя сейчас известно, что большинство пациентов с ОМЛ имеют более двух драйверных мутаций, а также, что отдельные мутации нельзя четко отнести к какому-либо типу, основная предпосылка возникновения ОМЛ в результате нарушения процессов дифференцировки остается верной (Papaemmanuil et al., 2016). Мутации I типа - в гене FLT3 (рецепторная fms-подобная тирозинкиназа 3), включая внутритандемные дупликации – ITD и мутации домена тирозинкиназы - TKD, а также в протоонкогенах семейства Ras (KRAS и NRAS), в антионкогене TP53 и в гене рецепторной тирозинкиназы c-KIT, обнаруживаются примерно в 28%, 12%, 8% и 4% случаев острых миелоидных лейкозов, соответственно (Ley et al., 2013). Также показано участие фактора транскрипции STAT3 в стимуляции клеточной пролиферации и выживаемости лейкозных клеток (Ghoshal Gupta, Baumann, Wetzler, 2008; Yamada, Kawauchi, 2013), повышенное фосфорилирование которого наблюдается в 50% случаев ОМЛ, и означает худший прогноз заболевания. Известные мутации II типа затрагивают гены нуклеофозмина NPM1 и фактора транскрипции CEBPA, которые обнаруживаются примерно в 27% и 6% случаев заболеваний, соответственно, и являются связанными с благоприятным течением и исходом ОМЛ. Изменения в генах, участвующих в эпигенетической регуляции, оказывающих воздействие на клеточную дифференцировку и пролиферацию, недавно отнесли к III типу мутаций. К ним относятся мутации в генах ферментов, связанных с метилированием ДНК, таких как DNMT3A, TET2, и генах изоцитратдегидрогеназы IDH-1 и IDH-2, которые обнаруживаются более чем в 40% эпизодов ОМЛ (Ley et al., 2013; Patel et al., 2012).

Как и в случае с нормальными клетками крови, трансформированные клетки ОМЛ неоднородны и существуют в пределах иерархии развития, хотя и усеченной. Многие исследования выявили, что трансформированные клетки ОМЛ действительно фенотипически и функционально гетерогенны (Van Galen et al., 2019). Только часть лейкоэмических клеток, называемых лейкозными стволовыми клетками (ЛСК), обладает способностью поддерживать рост опухоли в течение длительного времени. ЛСК, как правило, немногочисленны, находятся в состоянии покоя и подобны гемопоэтическим стволовым клеткам (ГСК) по способности как к самообновлению, так и к дифференцировке с образованием множества опухолевых клонов с неограниченной способностью к пролиферации (Boyd et al., 2018).

Хотя лейкозные клетки имитируют иерархическую структуру гемопоэза, развитие и течение заболевания сильно различается между пациентами. ЛСК экспрессируют различные поверхностные маркеры в зависимости от приобретенных мутаций (Ketkar et al., 2020; Pabst et al., 2016; Zhou, Chng, 2014). В целом лейкозные клетки находящиеся на вершине злокачественной иерархии могут быть подобны ГСК или коммитированным миелоидным предшественникам, а блокирование дифференцировки может происходить как на ранней, так и на поздней ступени миелоидного развития (Quek et al., 2018). Отдельные лейкозные клетки могут иметь смешанный клеточный фенотип, одновременно обладая признаками, которые обычно присущи разным типам нормальных незлокачественных клеток (Corces et al., 2016).

На молекулярном уровне формирование сложных фенотипов у лейкозных клеток вследствие одной мутации зависит от активности отдельных белков. Белки функционируют в сложной клеточной среде, которая различается даже между близкородственными типами клеток. Для определенного белка относительная экспрессия его вышестоящих регуляторов, кофакторов и нижестоящих мишеней различается на разных стадиях развития клетки. В результате эпигенетические и транскрипционные нарушения, вызванные генетическими мутациями, очень специфичны для каждого типа клеток. Вследствие динамического взаимодействия между генетическими и эпигенетическими изменениями при лейкомогенезе иерархия дифференцировки клонов ОМЛ и развитие отдельных лейкозных клеток диктуются не только природой генетических нарушений, но и стадией развития на которой они происходят. Мутации возникают в так называемой «клетке-родительнице», и очевидно, что определенное состояние хроматина в данной клетке может влиять на способность конкретной драйверной мутации перепрограммировать транскриптом.

Другим важным фактором, влияющим на эпигенетическую гетерогенность и судьбу клеток, является временная последовательность мутаций. Лейкомогенез происходит

позапно, при этом отдельные генетические и эпигенетические нарушения накапливаются с течением времени в предлейкемических ГСК до трансформации в полноценные ЛСК (Morita et al., 2020; Shlush et al., 2014). Исторически сложилось так, что фенотип конкретного типа злокачественной опухоли определялся суммой фенотипов, придаваемых отдельными мутациями в злокачественных клетках, составляющих опухоль. Однако по мере совершенствования техники секвенирования опухолевого генома стало очевидно, что некоторые мутации почти всегда возникают в основном клоне, тогда как другие возникают позже в процессе развития опухоли. Не так давно было показано, что последовательность мутаций в генах изменяет гемопоэтическую дифференцировку, влияя не только на прогрессию заболевания, но и на эффективность его терапии (Braun et al., 2019; Loberg et al., 2019; Ortmann et al., 2015). В совокупности исследования указывают на то, что эволюция опухолей может приводить к огромному количеству разнообразных последствий. Из этого следует, что даже у двух пациентов с идентичными генетическими мутациями прогноз и исходы лечения могут сильно различаться.

1.1.1 Классификация острого миелоидного лейкоза

Существует FAB (франко-американско-британская) система классификации ОМЛ, которая представляет собой морфологическую классификацию, основанную на степени созревания и линии дифференцировки лейкозных клеток, согласно которой процент бластных клеток в костном мозге должен составлять не менее 30%. В этой классификации ОМЛ подразделяется на следующие категории: М0 – миелобластный лейкоз с минимальной дифференцировкой; М1 – миелобластный лейкоз без созревания; М2 – миелобластный лейкоз с созреванием; М4 – миеломоноцитарный лейкоз; М4Ео – миеломоноцитарный лейкоз с эозинофилией костного мозга; М5 – моноцитарный лейкоз; М5а – плохо дифференцированный моноцитарный лейкоз; М5б – дифференцированный моноцитарный лейкоз; М6 – эритролейкемия; М7 – мегакариобластный лейкоз.

Исторически ОМЛ классифицировали в соответствии с морфологией и иммунофенотипом (FAB-классификация), но со времени третьего издания Классификации опухолей кроветворной и лимфоидной тканей Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) в диагностические алгоритмы были включены генетические аномалии при ОМЛ. Рецидивирующие генетические аномалии включают хромосомные транслокации с участием факторов транскрипции, связанные с отчетливыми клиническими, морфологическими и иммунофенотипическими особенностями, которые определяют клинико-патологическую и генетическую характеристику ОМЛ. Данная классификация

повышает клиническую и прогностическую ценность, а также сохраняет удобство использования. В пересмотренном 4-м издании классификации ВОЗ, опубликованном в 2017 году, ОМЛ подразделяется на 6 категорий: ОМЛ с повторяющимися генетическими аномалиями; ОМЛ с изменениями, связанными с миелодисплазией; миелоидные новообразования, связанные с терапией; ОМЛ, неклассифицированные иначе (включает предыдущие категории FAB); миелоидная саркома; и миелоиддисплазия, связанная с синдромом Дауна (Kovrigina, 2018).

ОМЛ с повторяющимися генетическими аномалиями включает в себя ОМЛ со сбалансированной транслокацией/инверсией, а также ОМЛ с генными мутациями, которые составляют около 20–30% всех пациентов с ОМЛ. ОМЛ со сбалансированными транслокациями включает t(8;21)(q22;q22.1); RUNX1-RUNX1T1, inv(16)(p13.1q22) или t(16;16)(p13.1;q22); CBFB-MYH11, PML-RARA, t(9;11)(p21.3;q23.3); KMT2A-MLLT3, t(6;9)(p23;q34.1); DEK-NUP214, inv(3)(q21.3q26.2) или t(3;3)(q21.3; q26.2); GATA2, MECOM, t(1;22)(p13.3;q13.1); RBM15-MKL1; и (условно) ОМЛ с BCR-ABL1. Многие из этих категорий заболеваний имеют характерные морфологические и иммунофенотипические особенности. ОМЛ с BCR-ABL1 — это недавно введенная временная категория, которая была вынесена в отдельную, несмотря на относительно низкую встречаемость, поскольку данная форма ОМЛ отличается от бластной фазы хронического миелолейкоза и является агрессивным самостоятельным заболеванием (Neuendorff et al., 2016).

ОМЛ с генными мутациями — еще одна категория ОМЛ с повторяющимися генетическими аномалиями. ОМЛ с мутантным NPM1 и биаллельным СЕВРА были включены в категорию «ОМЛ с повторяющимися генетическими аномалиями», а ОМЛ с мутацией RUNX1 был добавлен в качестве новой временной единицы. ОМЛ с мутацией NPM1 является наиболее повторяющейся генетической мутацией при ОМЛ и обычно связан с нормальным кариотипом, а также имеет хороший прогноз, но сопутствующие мутации FLT3 -ITD могут его изменять (Papaemmanuil et al., 2016). В пересмотренную классификацию только ОМЛ с биаллельной мутацией СЕВРА вынесен как отдельный объект из-за ее положительного влияния на прогноз (Dufour et al., 2010). ОМЛ с мутантным RUNX1 включен в классификацию ОМЛ и, как известно, имеет плохой прогноз (Stengel et al., 2018). Хотя ОМЛ с мутациями FLT3 встречается часто, его не выделяют отдельно из-за присутствия этой мутации во многих подтипах ОМЛ.

Диагностика ОМЛ с изменениями, связанными с миелодисплазией требует соблюдения следующих критериев. Во-первых, количество бластов в крови или костном мозге должно составлять $\geq 20\%$; во-вторых, у пациентов в анамнезе должен быть миелодиспластический синдром (МДС) или МДС/миелопролиферативное новообразование

(МПН), или цитогенетические нарушения, связанные с МДС, или многолинейная дисплазия; и, в-третьих, пациенты не должны были ранее получать цитотоксическую или лучевую терапию по поводу несвязанного заболевания или иметь рецидивирующие цитогенетические нарушения, описанные для ОМЛ с повторяющимися генетическими аномалиями. ОМЛ-МДС обычно имеет плохой прогноз с более низкой частотой полной ремиссии, чем другие подтипы ОМЛ (Arber et al., 2003). Для диагностики ОМЛ-МДС на основании морфологии дисплазия должна присутствовать в $\geq 50\%$ клеток как минимум в двух линиях гемопоэтических клеток.

Миелоидные новообразования, связанные с терапией (Т-МН), включают Т-ОМЛ, Т-МДС, Т-МДС/МПН, которые возникают как осложнение цитотоксической терапии и/или лучевой терапии, назначенной по поводу предшествующего неопластического или неопухолевого заболевания. Цитотоксические агенты, участвующие в развитии Т-МН, включают алкилирующие агенты, ингибиторы топоизомеразы II, некоторые антиметаболиты, антитубулиновые агенты и лучевую терапию. Т-МН составляет 10–20% всех случаев МДС и ОМЛ (McNerney, Godley, Le Beau, 2017). Независимо от количества бластов и морфологического диагноза, Т-МДС и Т-ОМЛ включаются в состав Т-МН из-за наличия предшествующего ятрогенного воздействия мутагенных агентов, и его связи с патогенезом Т-МН, хотя недавние исследования показали, что есть некоторые наследственные факторы риска (Takahashi et al., 2017). Прогноз Т-МН, как правило, плохой, на него влияют цитогенетические и генетические мутации, а также основное злокачественное новообразование по поводу которого ранее проводилась терапия.

Случаи ОМЛ, не отнесенные ни к одной из вышеперечисленных категорий, относят к ОМЛ, неклассифицированные иначе. Эта категория систематизирует ОМЛ на основе морфологии, цитохимии и иммунофенотипа, что являлось основой более ранних классификаций ОМЛ (FAB-классификация).

Опухолевая масса, состоящая из миелоидных бластов, локализуемая не в костном мозге, диагностируется как миелоидная саркома. Диагноз эквивалентен диагнозу ОМЛ и может предшествовать ОМЛ или совпадать с ним (Campidelli et al., 2009). Миелоидная саркома имеет бластный, а также монобластный или миеломоноцитарный тип. Недавние исследования с использованием секвенирования следующего поколения выявили мутации сходные с теми, которые участвуют в ОМЛ, такие как мутации KIT или FLT3 (Li et al., 2015).

Известно, что люди с синдромом Дауна (СД) имеют повышенный риск развития лейкемии (Webb, Roberts, Vyas, 2007). В эту категорию включены транзиторный аномальный миелопоэз (ТАМ), связанный с СД, и миелолейкоз, связанный с СД. ТАМ —

это заболевание новорожденных с СД, которое проявляется клиническими и морфологическими признаками ОМЛ через 3–7 дней после рождения. У большинства пациентов наблюдается спонтанная ремиссия, но у других через 1–3 года развивается ОМЛ. Большинство случаев миелолейкоза, связанного с СД, представляют собой острый мегакариобластный лейкоз (Roy, Roberts, Vyas, 2012). У людей с СД различие между МДС и ОМЛ не имеет значения, из-за чего они оба включены в категорию миелолейкоза, связанного с СД.

Таким образом, диагностика ОМЛ в соответствии с современной классификацией ВОЗ довольно сложна и требует результатов морфологического, иммунофенотипического, цитогенетического и молекулярно-генетического тестирования, а также сбора предшествующего анамнеза и клинической информации.

1.1.2 Диагностика и терапия острого миелоидного лейкоза

Гетерогенная группа заболеваний ОМЛ требует различных селективных методов лечения. Все более необходимым является быстрый целенаправленный геномный анализ для выявления генетических и молекулярных изменений, которые помогут выбрать подходящую предварительную терапию. Диагностика острого миелолейкоза требует выявления 20% или более миелоидных бластов с морфологической оценкой периферической крови или костного мозга. Исключения из этого правила включают изолированный экстрамедуллярный острый миелолейкоз (т.е. миелоидную саркому) или наличие рецидивирующих кариотипических или молекулярных aberrаций, которые являются патогномоничными для острого миелолейкоза. Эти геномные изменения, определяющие острый миелолейкоз, состоят из $t(8;21)$, образующего слияние $RUNX1-RUNX1T1$, и $inv(16)$ или $t(16;16)$, образующих $CBFB-MYH11$, которые определяют острый миелоидный лейкоз, связывающий ядро, и слитый ген $t(15;17)$ $PML-RARA$, который определяет острый промиелоцитарный лейкоз. В дополнение используется иммунофенотипирование с помощью проточной цитометрии для подтверждения миелоидного происхождения популяций злокачественных бластов и для помощи в дальнейшей классификации подтипа ОМЛ. Также следует провести цитогенетический анализ и скрининг на часто встречающиеся генные мутации и перестройки. В дополнение к тестированию на $NPM1$, $CEBPA$ и $RUNX1$, каждый из которых определяет конкретные подтипы острого миелолейкоза, необходимо также провести дополнительное геномное тестирование на $FLT3$ - внутреннюю tandemную дупликацию (ITD), $TP53$ и $ASXL1$, поскольку мутации в этих генах имеют прогностическое значение и важность для назначения лечения ОМЛ (Short, Rytting, Cortes, 2018).

Среди схем лечения ОМЛ отдельное внимание стоит уделить терапии острого промиелоцитарного лейкоза (ОПЛ), который является подтипом ОМЛ. Подмножество ОПЛ составляет около 5–10% от всех случаев ОМЛ. Для ОПЛ свойственна хромосомная транслокация t(15;17), кодирующая слитый белок PML-RAR α . ОПЛ проявляется массивной и быстрой экспансией промиелоцитов в костном мозге с фенотипом, представляющим собой промежуточную стадию между недифференцированным «бластом» и зрелым гранулоцитом. Уникальным в лечении ОПЛ является применение дифференцирующих агентов - транс-ретиноевой кислоты (ATRA) в комбинации с триоксидом мышьяка (ATO), что сегодня считается стандартом лечения ОПЛ (Ravandi, Kantarjian, 2015). Оба соединения вызывают быстрое превращение клеток ОПЛ в дифференцированные нейтрофилы. С одной стороны, было показано, что ATRA обращает транскрипционную репрессорную активность PML-RAR α , позволяя реактивировать подавленные гены-мишени. С другой стороны, ATRA и ATO синергически запускают протеолиз белка PML-RAR α , при этом ATRA действует на часть RAR α , а ATO - на часть PML. Деградация PML-RAR α приводит к восстановлению ядерных телец PML (PML-NB), многобелковых структур, обнаруживаемых во многих типах клеток, которые разрушаются в клетках ОПЛ за счет слияния PML-RAR α (Liang et al., 2021). Предполагается, что тельца PML участвуют в подавлении неконтролируемой пролиферации опухолевых клеток. Формирование PML-NB, усиленное активностью ATO на белке PML дикого типа (кодируемом оставшимся незатронутым аллелем PML), запускает старение, которое частично зависит от пути TP53. Благодаря применению такой схемы лечения общая пятилетняя выживаемость при ОПЛ теперь превышает 90%. Хотя схема лечения ATRA плюс триоксид мышьяка менее миелосупрессивна, чем химиотерапия, отмечают возникновение новых видов токсичности ATRA, к которым относят развитие «синдрома дифференцировки» с развитием гиперлейкоцитоза с возможной полиорганной недостаточностью, что требует применения профилактических стероидов (Zhu et al., 2018).

Открытие анти-ОМЛ-активности цитарабина и антрациклинов в 1970-х годах привело к серии рандомизированных исследований по оценке различных доз и схем приема цитарабина в сочетании с антрациклинами и добавление к индукционно-поддерживающей терапии ОМЛ других средств (этопозид, 6-меркаптопурина, 6-тиогуанина et al.). Эти исследования установили режим 3 + 7 в качестве стандарта лечения на следующие 40 лет. Схема 3 + 7 означает 3 дня приема антрациклинов (даунорубицин 30–60 мг/м² внутривенно [в/в] ежедневно $\times$ 3; идарубицин 12 мг/м² в/в ежедневно $\times$ 3 дня) и цитарабина (100–200 мг/м² в/в в виде непрерывного введения) ежедневно в течение 7 дней). Идарубицин, имеющий более длительное время внутриклеточного удерживания, имеет сопоставимые

показатели ремиссии, при этом меньшему числу пациентов требуется дополнительная терапия на 15-й день для достижения ремиссии.

После наступления первичной ремиссии у пациента, далее принимается решение о консолидирующей терапии, как правило, высокими дозами цитарабина в течение нескольких дней или решение о трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). Роль аллогенной ТГСК при остром миелолейкозе состоит из двух частей: режим кондиционирования высокими дозами химиопрепаратов обеспечивает антилейкемическую циторедукцию и, что, возможно, более важно, привитые донорские Т-клетки оказывают иммунологический эффект «трансплантат против лейкоза» для дальнейшего устранения остаточных лейкозных клеток (Gupta, Tallman, Weisdorf, 2011). Пациенты с благоприятным прогнозом в лечении ОМЛ, обычно получают консолидирующую химиотерапию в постремиссии, тогда как лицам с заболеванием неблагоприятного риска обычно предлагается ТГСК при первой ремиссии (Cornelissen, Blaise, 2016). Для пациентов с заболеванием промежуточного риска не существует единого мнения относительно оптимальной постремиссионной терапии, и лечение должно быть индивидуализировано на основе полной оценки риска рецидива, пригодности пациента, адекватности подходящего донора и предпочтений пациента.

Все больше исследований показывают, что существуют более эффективные схемы индукции-консолидации ОМЛ, чем 3 + 7. Модификации первой линии терапии ОМЛ включают: 1) добавление аналогов аденозиновых нуклеозидов (флударабин, клофарабин, кладрибин) к цитарабин-антрациклам; 2) добавление моноклонального антитела, нацеленного на CD33 (гемтузумаб озогамидин); 3) добавление таргетной терапии, такой как ингибиторы FLT3 и IDH, у соответствующих пациентов; 3) добавление ингибитора BCL-2 венетоклакса к индукционной терапии в ходе клинических исследований; 4) использование поддерживающей терапии пероральным азацитидином (гипометилирующим агентом).

Флударабин представляет собой антиметаболит из группы антагонистов пуринов. Схема использования комбинированного режима приема флударабина, а также других аналогов аденозиновых нуклеозидов (клофарабина, кладрибина) в сочетании с высокими дозами цитарабина и идарубицина активно изучалось в клинических испытаниях и показала некоторую эффективность в лечении ОМЛ (Jabbour et al., 2017). Для лечения CD33-положительного ОМЛ в 2017 году было одобрено Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) использование гемтузумаб озогамидина - моноклонального антитела анти-CD33, конъюгированного с токсином калихеамицином (Molica et al., 2021). Применение гемтузумаб озогамидина в клинике для

лечения пациентов с ОМЛ показывает обнадеживающие результаты (Zaitsev et al., 2020). После обзора стратегий лечения ОМЛ в 2016 году многие из подходов, перечисленные тогда как исследуемые, теперь утверждены FDA и используются в качестве стандартов лечения либо по одобренным FDA показаниям, либо в комбинированных методах лечения, которые усиливают клинические преимущества и делают их более экономически эффективными (Kantarjian, 2016). Это относится к венетоклаксу, ингибиторам FLT3 (гилтеритиниб, сорафениб, мидостаурин, квизартиниб), применение которых показано при ОМЛ с выявленными мутациями FLT3, и ингибиторам IDH 1/2 (эназидениб, ивонизидениб) для лечения ОМЛ с выявленными мутациями IDH (Stein et al., 2021; Xuan et al., 2023).

Выживание бластов ОМЛ и стволовых клеток ОМЛ зависит от антиапоптотического белка BCL-2, но нормальные гемопоэтические стволовые клетки зависят от MCL-1, что послужило основанием для исследования венетоклакса (ингибитор BCL2) при ОМЛ. Особую эффективность применение венетоклакса в сочетании с низкими дозами химиопрепаратов либо азацитидином показало в лечении пожилых пациентов, для которых не подходит схема лечения с использованием интенсивной химиотерапии из-за её высокой общей токсичности (Kadia et al., 2020).

Относительно недавно в клинической практике стали применяться низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на мутантные белки фермента изоцитратдегидрогеназы (IDH-1 и IDH-2), обнаруженные у 15–20% пациентов с ОМЛ (Pollyea et al., 2019; Roboz et al., 2020). Мутации IDH, приводящие к развитию лейкозов, связаны с накоплением онкометаболита 2-гидроксиглутарата (2-HG), молекулы, которая нарушает регуляцию многих биохимических путей, включая метилирование ДНК, РНК и гистонов, созревание коллагена, гипоксическую передачу сигналов и репарацию ДНК (Molenaar et al., 2018). Мутантные белки IDH обеспечивают цитокин-независимый рост и блокируют созревание различных типов клеток, а также способствуют дополнительным мутациям в инициации опухолевой трансформации (Zhang et al., 2020). Фармакологическое ингибирование продукции 2-HG способствует дифференцировке клеток ОМЛ и приводит к полной ремиссии у пациентов (Shih et al., 2017). Важнейшими среди новых дифференцировочных агентов являются ивонизидениб (AG-120) и эназидениб (AG-221), клинически одобренные пероральные ингибиторы мутантной IDH1 и IDH2, соответственно. Однако почти у всех пациентов, получавших лечение ингибиторами мутантных IDH1/2, в конце концов возникает рецидив, даже после полной ремиссии (DiNardo et al., 2018).

В целом при стандартной химиотерапии долгосрочная выживаемость пациентов с острым миелолейкозом достигается только у 35–45% лиц моложе 60 лет и у 10–15% лиц в

возрасте 60 лет и старше (Döhner et al., 2017). Рецидив ОМЛ и связанные с ним, например, инфекционные осложнения, являются наиболее распространенными причинами смерти. Рецидив острого миелолейкоза связан со значительным увеличением молекулярной сложности лейкозных бластных клеток: во время рецидива выявляется множество новых субклонов и мутаций, которые способствуют повышению устойчивости клеток к цитотоксической химиотерапии (Ding et al., 2012). Для пациентов с первым рецидивом медиана выживаемости составляет примерно 6 месяцев, при этом только около 10% пациентов достигают долгосрочной выживаемости. Предикторы худшего исхода у пациентов с первым рецидивом острого миелолейкоза включают продолжительность первой ремиссии равную 6 месяцам или менее, неблагоприятный кариотип, предыдущую ТГСК и пожилой возраст (Remmaraju et al., 2015). Пациенты с неудачной первичной индукцией ОМЛ или с множественными рецидивами заболевания имеют особенно плохие прогнозы, для которых целью дальнейшей антилейкемической терапии является достижение ремиссии и переход к аллогенной ТГСК, которая дает наилучшие шансы на излечение (Kurosawa et al., 2010). Для пожилых (>70 лет) или непригодных пациентов с рецидивирующим или рефрактерным (не поддающимся лечению) заболеванием, у которых аллогенная ТГСК невозможна, дальнейшее лечение в основном носит паллиативный характер.

1.1.3 Лекарственная устойчивость острого миелоидноо лейкоза

В настоящее время развитие химиотерапии, трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, иммунотерапии и таргетной молекулярной терапии дало возможность большому числу пациентов с ОМЛ достигнуть полной ремиссии. Частота полного ответа при первичной индукционной терапии составляет 60-80% у молодых людей и 40-60% у пожилых людей старше 65 лет. Однако почти у 60% пожилых пациентов после курса химиотерапии наступает рецидив заболевания, а у >85% пациентов не удается добиться продолжительного эффективного ответа на лечение (Luppi et al., 2018).

Исследования показывают, что лекарственная устойчивость является ключевой причиной, обуславливающей неудачу лечения, и краткосрочную выживаемость пациентов с ОМЛ. Лекарственную устойчивость лейкозных клеток принято делить на первичную и приобретенную. Первичная лекарственная устойчивость — это феномен, при котором опухолевые клетки, находящиеся в непролиферативной (покоящейся) G0-фазе клеточного цикла, являются конститутивно устойчивыми к лечению ещё до первичного применения противоопухолевых препаратов. Приобретенная резистентность представляет собой явление, при котором исходные опухолевые клетки являются чувствительными к

химиотерапевтическим препаратам, но лечебный эффект постепенно снижается, что приводит к лекарственной устойчивости, сформированной в процессе использования индукционной терапии. Остаточный опухолевый клон, устойчивых к лекарственным препаратам клеток, может трансформироваться в доминирующий клон, что создает трудности в лечении (Ding et al., 2012). Можно выделить следующие четыре общепризнанных механизма лекарственной устойчивости, которые возникают в лейкозных клетках: (1) это устойчивость, связанная с экспрессией белков и ферментов, (2) с генетическими изменениями, (3) с изменениями микроРНК и (4) с aberrантной активацией сигнальных путей, опосредующих лекарственную устойчивость (Рис. 1).



Рисунок 1. Механизмы лекарственной устойчивости клеток ОМЛ. PI3K - фосфоинозитид-3-киназа; AKT – протеинкиназа B; WT1 – белок Вильмса; белки МЛУ – белки множественной лекарственной устойчивости; LRP – белок резистентности лёгких; GST – глутатион-S-трансфераза. Адаптировано на основании (Zhang, Gu, Chen, 2019).

Например, белки МЛУ, такие как, Р-гликопротеин и MRP1, способны выкачивать препараты из клеток, снижая тем самым внутриклеточную концентрацию лекарств (Ji, Qiu, 2016). Белок LRP может блокировать ядерные поры, предотвращая попадание препаратов в ядро опухолевых клеток, а также участвовать в экзоцитозе везикул с лекарственным препаратом (Kulsoom, Shamsi, Afsar, 2019). Показано, что глутатион-S-трансфераза участвует в инактивации противоопухолевых препаратов путем их связывания с глутатионом (Hattem, El Banna, Huang, 2017). Для PKC (протеинкиназа C) показана возможность усиливать активность Р-гликопротеина, способствуя приобретению МЛУ (Nicholson et al., 2022). Так как топоизомераза II является мишенью многих противоопухолевых препаратов, снижение её экспрессии и активности в лейкозных клетках приводит к формированию лекарственной устойчивости (Levin et al., 2021). Также мутации FLT3 могут конститутивно активировать рецептор на лейкозных клетках, вызывая неконтролируемую пролиферацию, а WT1-индуцированное повышение экспрессии хинолинатфосфорибозилтрансферазы (QPRT) может придавать частичную устойчивость

опухолевым клеткам к противолейкозным препаратам (El Fakih et al., 2018; Ullmark et al., 2017). Известно, что микроРНК не участвуют в транскрипции или трансляции генома, но они могут играть критическую роль в прогрессии ОМЛ, модифицируя или контролируя множество процессов, включая клеточный цикл, пролиферацию, инвазию и репарацию повреждений ДНК (Lai et al., 2016). В то же время сигнальный путь PI3K/AKT/mTOR играет важную роль в стимулировании клеточного роста, пролиферации, инвазии и ингибировании апоптоза, из-за чего его сверхактивация может приводить к возникновению лекарственной резистентности у клеток ОМЛ (Chen et al., 2018). Аутофагия же может играть роль в формировании лекарственной устойчивости посредством двух механизмов: аутофагии, опосредованной фактором транскрипции теплового шока 1 (HSF1) и Met-опосредованной аутофагии. HSF1 активируется в ответ на стресс, индуцированный внешним воздействием, что может повышать экспрессию белка, связанного с аутофагией 7 (ATG7), приводя к активации клеточной аутофагии, способствующей выживанию лейкозных клеток. Met представляет собой рецептор тирозинкиназы, аутокринная активация которого участвует в запуске аутофагии у клеток ОМЛ, тем самым защищая их от действия противоопухолевых препаратов (Seo et al., 2022).

Помимо способности лейкозных клеток приобретать лекарственно-устойчивый фенотип, ещё одной глобальной проблемой при лечении ОМЛ является рецидив заболевания, вызванный персистирующими лейкозными клетками, которые выживают после первоначального лечения, что индуцирует развитие минимальной остаточной болезни (МОБ) (Рис. 2). Считается, что ЛСК, присутствующие при МОБ, ответственны за повторное возникновение (рецидив) опухоли. Наличие большого количества ЛСК ассоциировано также с агрессивным течением заболевания и лекарственной устойчивостью (Jongen-Lavrencic et al., 2018). Исследования показали, что в контексте резистентности ОМЛ к химиотерапии могут быть важны помимо состояния покоя, также специфическое метаболическое состояние ЛСК, а именно высокое окислительное фосфорилирование, подпитываемое повышенным метаболизмом аминокислот и синтезом жирных кислот, что по-видимому, может играть ключевую роль в способности ЛСК противостоять хемотоксическому стрессу (Jones et al., 2018). Примечательно, что в процессе химиотерапии фенотип ЛСК способен меняться, что указывает на влияние самого лечения на появление клеток, инициирующих рецидив (Boyd et al., 2018). ЛСК образуют резистентные персистирующие лейкозные клоны, которые характеризуются состоянием покоя, адаптацией к микроокружению костного мозга (КМ) и фенотипической пластичностью. Механизмы, вызывающие их персистенцию, включают множество эпигенетических, транскрипционных и метаболических процессов, которые часто существуют в

совокупности (Gils van, Denkers, Smit, 2021). Таким образом, с одной стороны, рецидив ОМЛ опосредован клональной эволюцией лейкозных клеток, с другой стороны, иммуносупрессивной средой микроокружения костного мозга, приводящей к ускользанию опухолевых клеток от иммунного ответа (Ladikou et al., 2020).

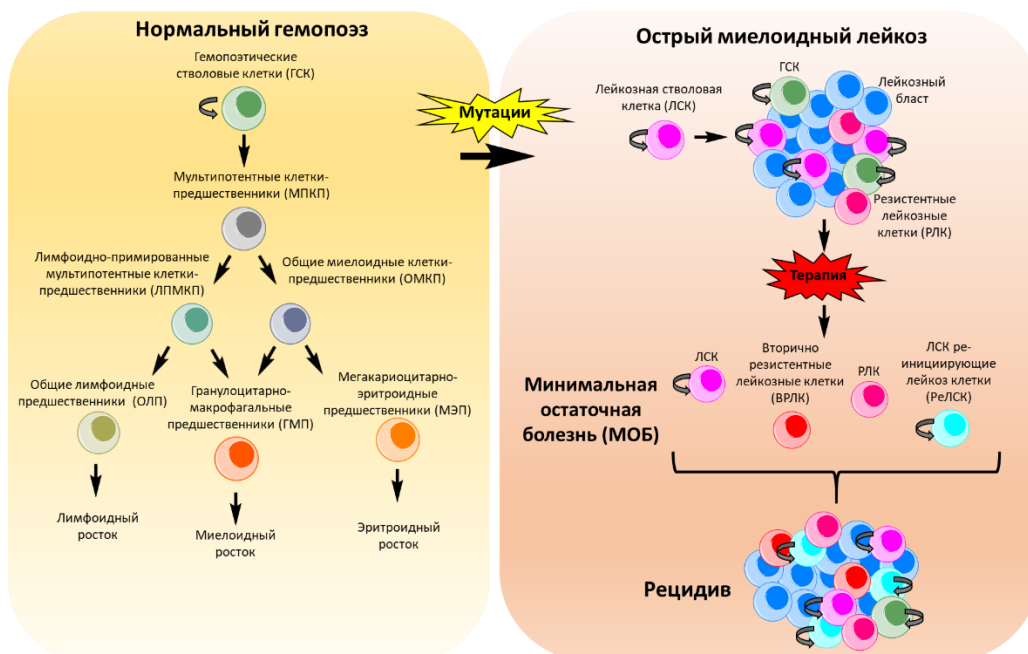


Рисунок 2. Роль МОБ, лекарственной устойчивости и ЛСК в развитии рецидива ОМЛ. При нормальном гемопоэзе (желтая рамка) покоящиеся ГСК со способностью к самообновлению дают начало МПКП, которые через промежуточные клеточные фенотипы (ЛПМКП и ОМКП) могут дифференцироваться в клонально-коммитированных предшественников (ОЛП, ГМП и МЭП), продуцирующих терминально-дифференцированные лимфоидные, миелоидные и эритроидные клетки крови. ОМЛ возникает в результате трансформирующих мутаций, происходящих в ГСК, МПКП или более коммитированных клетках-предшественниках, что приводит к формированию самоподдерживающихся ЛСК. При ОМЛ (оранжевая рамка) существует гетерогенная популяция лейкозных клеток с различной чувствительностью к терапии. Более того, ЛСК и ГСК, ответственные за восстановление нормальных клеток крови после терапии, одновременно сосуществуют в нише костного мозга. После индукционной терапии и ремиссии формирование МОБ обуславливает сохранившаяся популяция устойчивых к химиотерапии ЛСК и первично устойчивых бластов (РЛК). Вместе с этим, под воздействием (химио)терапевтического отбора формируются вторично-устойчивые лейкозные бласты (ВРЛК) и РеЛСК, имеющие новый адаптивный фенотип. Адаптировано из (Gils van, Denkers, Smit, 2021).

В последние годы была продемонстрирована важность взаимодействия между бластами ОМЛ, гемопоэтической нишей и клетками иммунной системы для развития и прогрессии ОМЛ. Были охарактеризованы механизмы, лежащие в основе способности клеток ОМЛ, вызывать иммунологическое ускользание и системную толерантность (Isidori et al., 2014). Учитывая молекулярную неоднородность ОМЛ и природное разнообразие лейкозных бластов, наилучшей стратегией борьбы с ОМЛ в конечном итоге является

сочетание или последовательное применение химиотерапии, иммунотерапии и молекулярной терапии. Более того, использование новых методов мониторинга минимальной остаточной болезни для выявления на раннем этапе лейкозных клонов, способных инициировать рецидив, вместе с биомаркерами раннего ответа МОБ и геномным профилированием является обязательным для повышения эффективности лечения ОМЛ (Isidori et al., 2019).

1.1.4 Провоспалительное микроокружение при остром миелоидном лейкозе

Микроокружение в нишах костного мозга представляет собой комплекс различных клеток и растворимых факторов, обеспечивающих основу для достаточного и хорошо регулируемого кроветворения при участии гемопоэтических стволовых клеток. При ОМЛ микроокружение КМ, его структура и функционирование глубоко изменяются, чтобы помочь бластам ОМЛ выжить во время терапии, распространиться и ускользнуть от действия противоопухолевого иммунитета. Важную роль при этом играют как различные клеточные подгруппы, так и растворимые факторы (Menter, Tzankov, 2022).

Хорошо известно, что для микроокружения в нишах лейкозного КМ характерно хроническое воспаление, и результатом такого постоянного воздействия на опухолевые клетки воспалительных стимулов и других сигналов, исходящих от лейкозного микроокружения, может являться aberrантная активация ТФ NF-κB в бластах ОМЛ (Di Francesco et al., 2022). Онкогенез, индуцированный воспалением, является одним из наиболее важных механизмов, лежащих в основе пролиферации лейкозных клеток. Воспаление стимулирует выработку факторов роста и/или проангиогенных факторов, которые поддерживают пролиферативную передачу сигналов, сдерживают механизмы гибели клеток и/или подавляют противоопухолевые иммунные реакции. Известно, что NF-κB выступает в качестве основного посредника между воспалением и опухолью, способствуя уклонению от апоптоза и поддержанию выживания лейкозных клеток с помощью индукции секреции провоспалительных цитокинов, таких как ФНОα, интерлейкина 6 (ИЛ-6), интерлейкина 1β (ИЛ-1β), а также регуляции экспрессии гемоксигеназы-1 и индуцибельной активации синтазы оксида азота (iNOS) в опухолевом микроокружении (Greten, Grivennikov, 2019). Как сообщается в литературе, ОМЛ характеризуется секрецией высоких уровней провоспалительных цитокинов, которые, в свою очередь, активируют путь NF-κB, тем самым создавая петлю положительной обратной связи, способную поддерживать NF-κB-зависимый рост ОМЛ *in vivo* (Bosman, Schuringa, Vellenga, 2016). Недавние результаты показали, что белок 2, связывающий регуляторный фактор 2 интерферона (IRF2BP2), ослабляет воспалительные сигналы между моноцитарными клетками ОМЛ, контролируя опосредованную NF-κB передачу сигналов

ФНО α . Соответственно, подавление IRF2BP2 индуцирует опосредованную каспазой 8 и каспазой 3 апоптотическую гибель клеток посредством NF- κ B-опосредованной активации ИЛ- β 1 (Puissant, Medyouf, 2022). Также показано, что ФНО α стимулирует рост лейкозных клеток посредством аутокринной индукции передачи сигналов NF- κ B и JNK-AP1 (N-концевая киназа c-Jun/белок-активатор-1), предполагая, что несколько сигнальных путей взаимодействуют для поддержки пролиферации опухолевых клеток. Фактически, одного лишь ингибирования NF- κ B недостаточно для ингибирования роста лейкозных клеток из-за активации антиапоптотических генов через сигнальный путь ФНО/JNK. Соответственно, исследования *in vivo* показали, что ингибирование NF- κ B, наряду с инактивацией ФНО α , вызывает гибель лейкозных клеток. Кроме того, было выявлено, что ФНО α , продуцируемый лейкоэмическими клетками, ингибирует нормальный рост гемопоэтических и прогениторных клеток паракринным образом, что может объяснять гемопоэтическую репрессию, наблюдаемую у пациентов с ОМЛ. Эти результаты дают основания предполагать, что совместное ингибирование путей ФНО/JNK-AP1 и ФНО/NF- κ B может быть потенциальным терапевтическим подходом для ингибирования роста лейкозных клеток, одновременно защищая прогениторные клетки в тех подтипах ОМЛ по FAB классификации, которые экспрессируют ФНО, таких как М3, М4, М5 (Volk et al., 2014). Также есть исследования, в которых продемонстрировано, что лейкозные стволовые клетки демонстрируют конститутивную активность NF- κ B вследствие аутокринной секреции ФНО α , что, в свою очередь, способствует деградации I κ B α посредством длительной активации протеасомного механизма, индукции деградации I κ B α и транслокации NF- κ B в ядро. Поскольку ФНО α является одним из генов-мишеней NF- κ B, прогрессирование лейкемии поддерживается с помощью петли обратной связи NF- κ B/ФНО α . И наоборот, ингибирование NF- κ B в ЛСК сдерживает онкогенез *in vivo*, что позволяет предположить, что ось NF- κ B/ФНО α поддерживает прогрессирование ОМЛ (Kagoya et al., 2014). В целом применение ингибиторов ФНО и ИЛ-1 β повышает чувствительность ЛСК к ингибированию NF- κ B, что указывает на то, что такая комбинированная стратегия может быть использована для уничтожения лейкозных клеток, а также ЛСК, и преодоления опосредованной ЛСК лекарственной устойчивости (Li et al., 2017).

1.2 Перспективы и проблемы применения препаратов на основе TRAIL в лечении злокачественных новообразований

1.2.1 Сигнальный путь TRAIL

В настоящий момент иммунотерапия является перспективным и активно разрабатываемым направлением в лечении ОМЛ. Несмотря на то, что опухолевые клетки обладают механизмами ускользания от действия естественного противоопухолевого иммунитета, применение различных иммунотерапевтических стратегий показало высокую клиническую эффективность в лечении нескольких типов онкологических заболеваний (Zhang, Zhang, 2020; Alizadeh Zeinabad, Szegezdi, 2022). Одним из направлений иммунотерапии опухолевых заболеваний является использование препаратов на основе цитокинов (Waldmann, 2018). Цитокин TRAIL (лиганд, индуцирующий апоптоз, связанный с фактором некроза опухоли, CD253, Apo/2L) является членом семейства белков ФНО (ФНО α , ФНО β , Fas), первоначально описанный как селективный индуктор для запуска внешнего пути апоптоза в злокачественных клетках (Pimentel, Zhou, Wu, 2023). Способность TRAIL запускать апоптоз независимо от p53 в отличие от большинства химиотерапевтических препаратов считается основным преимуществом его использования (Willms et al., 2019). В организме цитокин TRAIL является одним из эффекторов противоопухолевого иммунитета, который экспрессируется на большинстве иммунокомпетентных клеток (Sag et al., 2019). TRAIL является трансмембранным белком II типа, содержащим внеклеточный домен, который при расщеплении цистеиновыми протеазами образует биологически активную растворимую форму. Таким образом, этот цитокин существует в двух формах: мембраносвязанной (mTRAIL) и растворимой (sTRAIL). Как мембраносвязанная, так и растворимая формы данного белка способны запускать апоптоз в клетках-мишенях (Wajant, 2019). Обе формы экспрессируются в различных субпопуляциях лейкоцитов и участвуют в опосредованной NK- или Т-клетками элиминации злокачественных клеток (Ehrlich et al., 2003; Tecchio et al., 2004). *In vivo* TRAIL встречается в виде тримера, который индуцирует олигомеризацию своих рецепторов на клеточной поверхности (Dubuisson, Micheau, 2017). Взаимодействие TRAIL с рецепторами DR4 (TRAIL-R1) и DR5 (TRAIL-R2) может приводить к активации как внешнего, так и внутреннего пути апоптоза в опухолевых клетках (Рис. 3), и взаимосвязь между этими путями обеспечивается расщеплением белка, взаимодействующего с доменом BH3 (Bid), до его укороченной формы tBid. Рецепторы ловушки DcR1 (TRAIL-R3) и DcR2 (TRAIL-R4) имеют TRAIL-связывающий домен, но не имеют цитоплазматических доменов, необходимых для активации апоптоза, в то время как пятый рецептор для TRAIL – OPG

(остеопротегерин) является растворимым, и также способен конкурировать с рецепторами смерти за связывание с TRAIL, тем самым подавляя активацию апоптоза (Lemke et al., 2014).

Запуск внешнего пути апоптоза начинается со связывания TRAIL с двумя своими рецепторами смерти DR4 и DR5, что приводит к тримеризации рецепторов и образованию сигнального комплекса, индуцирующего смерть (DISC) (Xu et al., 2018). Fas-ассоциированный белок домена смерти (FADD) рекрутируется в DISC, где взаимодействует с доменами смерти (DD) цитоплазматической области рецепторов, обеспечивая транслокацию и последующую активацию прокаспазы-8 и -10 путем соединения с соответствующим эффекторным доменом смерти (DED). Дальнейшая активация инициаторной каспазы-8 и -10 приводит к протеолитической активации эффекторной каспазы-3, которая расщепляет клеточные структуры. Каспазы являются цистеин-зависимыми, аспартат-специфичными протеазами и регулируются на посттрансляционном уровне, что обеспечивает их быструю активацию. Сначала они синтезируются в виде неактивной прокаспазы, состоящей из продомена, субъединицы и большой субъединицы. Инициаторные каспазы обладают более длинным продомом, который либо содержит домен рекрутирования каспазы (CARD), как в случае каспаз-2 и -9, либо эффекторный домен смерти (DED), как в случае каспазы-8 и -10. Эти продомены позволяют каспазам взаимодействовать с другими белками, которые регулируют их активацию. Каспазный каскад может активироваться при активации рецептора смерти, что приводит к образованию DISC, или через собственный белковый комплекс, называемый апоптосомой, в случае внутреннего пути апоптоза (Mouasni, Tourneur, 2018).

Во внутреннем пути апоптоза активация каспазы-8 поддерживает расщепление проапоптотического белка Bid до усеченной формы tBid, который взаимодействует с проапоптотическими белками Bax и Bak. Это взаимодействие облегчает олигомеризацию и встраивание Bax и Bak в митохондриальную мембрану, что приводит к нарушению мембранного потенциала митохондрий и выходу в цитозоль цитохрома C, а также проапоптотических белков Smac/Diablo, Htra2/Omi и фактора, индуцирующего апоптоз (AIF). Цитохром C связывает адапторный белок (APAF-1), который рекрутирует инициаторную прокаспазу-9 (посредством взаимодействия доменов CARD-CARD), что приводит к образованию мультипротеинового комплекса, называемого апоптосомой, в котором происходит активация каспазы-9. Далее каспаза-9 протеолитически активирует каспазу-3, которая расщепляет клеточные компоненты (Humphreys et al., 2020; Sanaei, Kavoosi, 2021).

Как внешний, так и внутренний путь TRAIL-индуцированного апоптоза строго регулируется. Апоптотический сигнал поддерживает, вышедший из митохондрий белок Smac/Diablo и Htra2/Omi, которые связывают семейство ингибиторных белков апоптоза (IAPs), подавляющих активность каспаз. В тоже время, независимо от каспаз, проапоптотический митохондриальный белок AIF направляется в ядро, где участвует в деградации ядерных белков. С другой стороны, ингибированию апоптоза способствуют антиапоптотические белки. В DISC стимуляция каспазы-8/10 может быть подавлена клеточным FLICE-подобным ингибиторным белком (с-FLIP). Такие антиапоптотические белки семейства IAP как, XIAP и сурвивин, находящиеся под регулированием Smac/Diablo и Htra2/Omi, направлены на прямое подавление активности эффекторных каспаз. В тоже время, антиапоптотические белки семейства Bcl-2, такие как Bcl-xL, Bcl-2 и MCL-1, ингибируют активность Bax и Bad, мешая высвобождению цитохрома C из митохондрий (Eberle, 2019).

Таким образом внешний и внутренний путь TRAIL-индуцированного апоптоза взаимосвязаны, а выживание опухолевых клеток после запуска сигнального каскада TRAIL зависит от баланса про- и антиапоптотических белков.

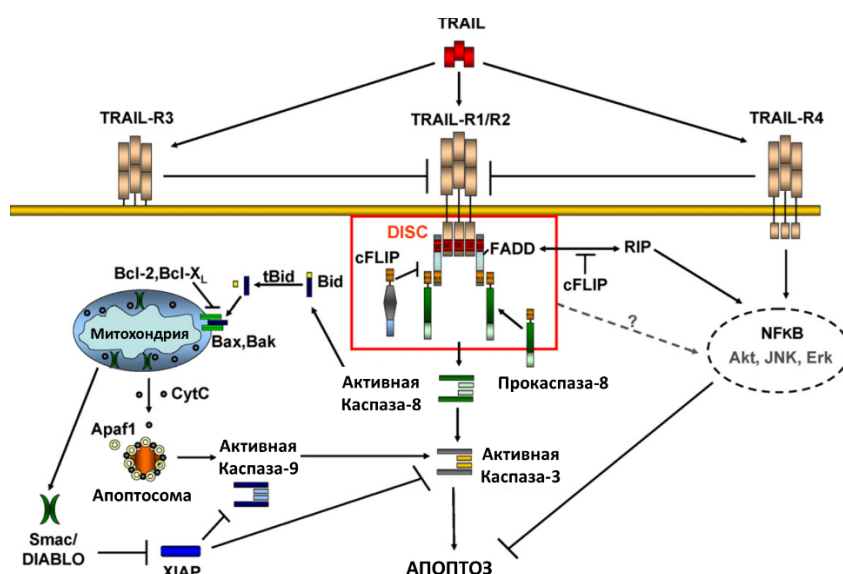


Рисунок 3. Схема сигнального пути TRAIL-индуцированного апоптоза адаптировано из (Falschlehner et al., 2007).

По зависимости от митохондриального (внутреннего) пути апоптоза клетки можно разделить на два типа. В клетках I типа сверхэкспрессия Bcl-2 блокирует встраивание в мембрану митохондрий проапоптотических белков, тем самым подавляя запуск внутреннего пути апоптоза, однако, клетки все еще могут гибнуть от внешнего рецептор-опосредованного сигнального каскада. В этом случае массивной активации каспазы-8 на

DISC достаточно для прямой активации эффекторных каспаз. Напротив, образование DISC у клеток II типа является слабым и недостаточным для запуска апоптоза и, следовательно, для них требуется дополнительная петля амплификации через митохондриальный путь для достаточной активации эффекторных каспаз (Falschlehner et al., 2007).

1.2.2. Препараты на основе TRAIL

К сожалению в лечении лейкозов применение препаратов на основе TRAIL не отличается успехом (Kaufmann, Steensma, 2005). К настоящему времени несколько препаратов на основе белка TRAIL либо, нацеленных на TRAIL-рецепторы, достигли II и III фазы клинических испытаний на людях в лечении разных видов опухолей. Одним из таких является препарат Дуланермин, который представляет собой рекомбинантный TRAIL. Дуланермин может образовывать стабильные биоактивные тримеры, которые связываются с DR4 и DR5 и избирательно индуцируют апоптоз опухолевых клеток, а также работает в тандеме с рядом химиотерапевтических агентов. Добавление дуланермина к стандартной химиотерапии при немелкоклеточном раке легких (НМРЛ) и В-клеточной нелимфоме Ходжкина улучшало выживаемость пациентов. Однако несмотря на многообещающие результаты, дуланермин имеет плохой фармакокинетический профиль, короткий период полувыведения и способность связываться с рецепторами ловушками DcR (Snajdauf et al., 2021). В целом низкая биологическая активность, короткий биологический период полураспада, стабильность и опухолевая специфичность рекомбинантных белков TRAIL являются основными факторами, ограничивающими их клиническое применение (Pimentel, Zhou, Wu, 2023). Поэтому были предприняты усилия по преодолению этих ограничений. Для улучшения стабильности rTRAIL была разработана тримерная форма белка TRAIL - препарат SCB-313, который был протестирован в I фазе клинических исследований злокачественных новообразований брюшины (Guo et al., 2022). Также недавно исследовалась клиническая эффективность в I и II фазах испытаний на солидных опухолях и при лечении множественной миеломы препарата ABBV-621 (эфтозанермин), представляющего собой шестивалентный слитый белок TRAIL-Fc, который продемонстрировал противоопухолевую активность с приемлемой токсичностью (LoRusso et al., 2022).

Одной из проблем терапии на основе TRAIL является трудность его доставки к целевым опухолевым клеткам. Для решения этой задачи исследуется применение TRAIL в комплексе с наночастицами. Было разработано несколько TRAIL-содержащих наночастиц, состав которых варьируется от человеческого сывороточного альбумина до микросфер поли (лакто-гликолевой) кислоты и липосом (Gampa, 2023). Однако на сегодняшний момент доставка rTRAIL в опухоли остается сложной задачей и необходимы

дополнительные исследования, чтобы полностью понять клинический потенциал наночастиц, содержащих TRAIL.

Напротив, антитела-агонисты TRAIL против рецепторов смерти имеют несколько преимуществ перед лигандами TRAIL, которые заключаются в большей стабильности и прямом нацеливании на рецепторы DR4 или DR5 (Di Cristofano et al., 2023). Одним из таких агонистов является мапатумумаб – антитело к DR4, которое достигло второй фазы клинических испытаний в лечении НМРЛ, множественной миеломы, неходжкинской лимфомы и гепатоцеллюлярной карциномы (Lemke et al., 2014). Также в клинических исследованиях фазы II изучалось антитело к DR5 - тигатузумаб при НМРЛ, раке поджелудочной железы, раке яичников, колоректальном раке и тройном негативном раке молочной железы. Большинство антител, нацеленных на DR5 и DR4, безопасны и хорошо переносятся пациентами в дозе 20 мг/кг/день (Singh et al., 2021). Кроме того, не так давно в клинические исследования вступили четырехвалентное антитело INBRX-109 и мультимерное антитело к DR5 - IGM-8444, которые будут исследоваться при различных солидных опухолях и саркомах (Chawla et al., 2022; Wang et al., 2021).

Однако несмотря на многообещающие результаты, неспособность разрабатываемых антител к DR4 и DR5 индуцировать тримеризацию рецепторов, существенно ограничивает их клиническую эффективность. Поэтому модификации антител к TRAIL-рецепторам смерти для усиления их кластеризации, а также сочетание антител с другими видами химиотерапии, являются одними из подходов по улучшению терапии опухолевых заболеваний (Dubuisson, Micheau, 2017). Кроме того, одной из многообещающих малых молекул, индуцирующих TRAIL и DR5, является ONC201, которая в настоящий момент находится на стадии III клинических испытаний для лечения рецидивирующей глиомы (Prabhu et al., 2020).

Несмотря на ожидаемый высокий терапевтический потенциал агонистов TRAIL-R, резистентность к апоптозу часто встречается в культурах опухолевых клеток и *in vivo* в моделях опухолевых заболеваний, что объясняет неутешительные результаты клинических исследований. Главным ограничением применения TRAIL для терапии онкологических заболеваний является развитие TRAIL-резистентности у опухолевых клеток с помощью различных механизмов (Holland, 2014). Согласно литературным данным, повышенная регуляция антиапоптотических белков, обуславливающих пролиферацию и клеточную выживаемость, а также пониженная экспрессия проапоптотических белков и рецепторов DR4, DR5, по-видимому, играют решающую роль в формировании устойчивости к TRAIL у опухолевых клеток (Deng, Shah, 2020). Было обнаружено, что TRAIL-R могут индуцировать неканоническую передачу сигналов, включающую активацию

провоспалительных каскадов, путей выживания и пролиферации, обуславливающих эффект метастазирования (Karstedt von, Walczak, 2020). В неканонической передаче сигналов преимущественно участвуют рецепторы DR5, DcR1 и DcR2, лигирование которых может приводить к образованию вторичного сигнального комплекса, состоящего, среди прочего, из взаимодействующей с рецептором серин/треониновой протеинкиназы 1 (RIPK1), фактора, ассоциированного с рецептором ФНО 2 (TRAF2) и домена смерти, связанного с рецептором ФНО (TRADD). Впоследствии этот сигнальный комплекс способен активировать различные проонкогенные сигнальные пути, включая I κ B/NF- κ B, MAPK/ERK, STAT3, PI3K, Akt, JAK2 и Src (Azijli et al., 2013). Таким образом, комбинированное использование TRAIL с различными сенсibiliзирующими препаратами, нацеленными на данные сигнальные пути (например, синтетическими агентами), показало выраженные терапевтические результаты в повышении TRAIL-индуцированной противоопухолевой активности (Shi et al., 2020; Montinaro, Walczak, 2023).

1.3 Динамика проапоптотических TRAIL-рецепторов и устойчивость опухолевых клеток к TRAIL-индуцированному апоптозу

Исследования демонстрируют тесную связь между устойчивостью к TRAIL и дефектами самих проапоптотических рецепторов DR4 и DR5, экспрессированных на клеточной поверхности опухолевых клеток. Более того, несмотря на внутриклеточную экспрессию белков DR4 и DR5, сами рецепторы физически могут отсутствовать на клеточной поверхности, что достаточно для придания опухолям устойчивости к таргетной терапии независимо от уровней экспрессии других соответствующих сигнальных молекул (Twomey et al., 2015).

1.3.1 Транскрипционная регуляция экспрессии DR4 и DR5

Как уже было отмечено выше, сигнальный путь TRAIL-индуцированного апоптоза не зависит от активности p53. Поскольку p53 мутирует примерно в 50% известных опухолей, что придает им лекарственную устойчивость к классическим ДНК-повреждающим препаратам, первоначально предполагалось, что агонисты DR4 и DR5 можно использовать для уничтожения раковых клеток, экспрессирующих мутантный p53 (Huang et al., 2019). Однако сейчас эта идея оспаривается тем фактом, что p53 выступает фактором регуляции транскрипции гена DR5. Об этом свидетельствует также, повышение экспрессии гена DR5 и чувствительности к TRAIL-индуцированному апоптозу с помощью применения химиотерапевтических агентов у опухолевых клеток, экспрессирующих функциональный p53. Экспрессия гена DR5 также регулируется стресс-индуцируемыми

факторами транскрипции, такими как, CHOP, Elk1, NF-κB, AP-1, Sp1, FOXO3a и Ying Yang 1 (YY1) (Sheikh et al., 1998; Yoshida et al., 2001). Например, CHOP модулирует экспрессию мРНК рецептора DR5 через связывание с 5'-фланкирующей областью гена DR5, а транскрипционный фактор Elk1 сотрудничает с CHOP в регуляции экспрессии гена DR5 (Oh et al., 2010; Yamaguchi, Wang, 2004). Известно, что NF-κB является ключевым регулятором транскрипции экспрессии гена DR5 (Shetty et al., 2005). Также промотор гена DR5 содержит несколько функциональных областей для связывания транскрипционных факторов AP-1 и Sp1 (Moon et al., 2012). Было показано, что AP-1 представляет из себя димерный комплекс, состоящий из белков c-Jun и c-Fos, который может усиливать экспрессию гена DR5 в ответ на активацию протеинкиназой JNK (Zou et al., 2004). Также в промоторе гена DR5 были обнаружены четыре предполагаемых области для связывания с Sp1, который может усиливать экспрессию DR5 в клетках, обработанных цитотоксическими препаратами. Кроме того, было выявлено, что транскрипционный фактор FOXO3a, который активируется с помощью АКТ, также участвует в регуляции транскрипции генов DR4 и DR5 (Ganapathy et al., 2010). Имеются данные о действии белка YY1 как транскрипционного репрессора гена DR5. Так, блокирование передачи сигнала NF-κB вызывало ингибирование YY1, что приводило к усилению экспрессии DR5 (Baritaki et al., 2008). Кроме того, обнаружено, что ингибиторы гистондеацетилазы посредством облегчения транскрипции Sp1 или NF-κB, также могут вызывать повышение уровней мРНК и самих белков DR4 и DR5 в опухолевых клетках (Singh, Shankar, Srivastava, 2005).

Ген DR4 имеет несколько общих с DR5 регулирующих факторов транскрипции, таких как p53, NF-κB, CHOP, FOXO3a и AP-1 (Guan et al., 2001; Jin et al., 2004; Mendoza et al., 2008; Shoen, Ramana, Srivastava, 2013). Однако также был выявлен специфический для DR4 репрессор транскрипции - GLI-3 (Kurita et al., 2010). Так, показан эффект повышения экспрессии DR4/DR5 при воздействии тапсигаргином и ингибитором протеасом MG132, оба из которых усиливают экспрессию белка CHOP (Yamaguchi, Wang, 2004; Yoshida et al., 2005). Также повышение представленности DR4/DR5 в клетках выявлено при использовании капсаицина, индуцирующего экспрессию Sp1 или протеасомного ингибитора NPI-0052, который подавляет экспрессию YY1 (Baritaki et al., 2008; Moon et al., 2012). В целом терапевтические агенты, способные усиливать экспрессию генов DR4/DR5, могут потенциально повышать чувствительность клеток к индукции апоптоза рекомбинантными антителами к DR4/5.

1.3.2 Посттрансляционные модификации DR4 и DR5

Все больше данных свидетельствует о том, что экспрессия мРНК рецепторов DR4 и DR5, обнаруживаемая в клетках, не обязательно отражает экспрессию и представленность

на мембране их функциональных белков, что связано со сложными посттрансляционными модификациями синтезированных белковых рецепторов. К таким модификациям относятся процессы гликозилирования белков, транспорта рецепторов на клеточную мембрану и их эндоцитоза.

Гликозилирование TRAIL-рецепторов. Гликозилирование белков представляет собой посттрансляционную модификацию, заключающуюся, в случае N-гликозилирования, в присоединении гликанов к Asn остаткам белка, а в случае O-гликозилирования – к Ser/Thr остаткам белка. Обнаружено, что DR4 и DR5 могут подвергаться N- или O-связанному гликозилированию, тем самым модулируя клеточную чувствительность к TRAIL-индуцированному апоптозу. O-связанное гликозилирование DR5 катализируется N-ацетил-галактозаминтрансферазой GALNT3, GALNT14 и α -(1,3)-фукозилтрансферазой (FUT) (Wagner et al., 2007). Всего известно 24 изоформы GALNT, а дальнейший процессинг O-гликанов опосредуют десять FUT. Предполагается, что O-гликозилирование повышает стабильность рецепторов TRAIL на мембране, предотвращая эндоцитоз, а также облегчает транслокацию рецепторов в кластеры для сборки DISC и активацию каспазы-8, что положительно коррелирует с чувствительностью к TRAIL у опухолевых клеток (Wu et al., 2012). Показано, что нокдаун GALNT14 ингибирует рекрутирование DISC за счет снижения транслокации DR4 и DR5, а также за счет дефицита рецепторов на поверхности клеток (Wagner et al., 2007). Также выявлено, что N-связанное гликозилирование DR4 стабилизирует рецептор на плазматической мембране, с помощью ингибирования интернализации через связывание гликозилированных рецепторов с галектинами плазматической мембраны клеток (Mazurek et al., 2012).

Транспорт TRAIL-рецепторов к плазматической мембране. Поверхностная представленность DR4 и DR5 зависит от транслокации белка из транс-сети Гольджи к плазматической мембране. Такой перенос рецепторов к плазматической мембране регулируется белками везикулярного транспорта, таким как, адаптерный белок ARAP1, и сигнальными белками ядерной транслокации, например, импортином β 1 (Kojima et al., 2011; Simova et al., 2008). Нарушения везикулярного транспорта приводят к поверхностному дефициту DR4/5 и увеличению локализации этих рецепторов в цитозоле, ап. Гольджи и ядерной мембране (Leithner et al., 2009; Liu et al., 2009; Zhang et al., 2000). Кроме того, было обнаружено, что локализация DR5 в ядре может быть вовлечена в процессинг микроРНК, такой как let-7, участвующей в дифференцировке опухолевых клеток, что указывает на возможную ядерную функцию рецепторов смерти (Haselmann et al., 2014).

Регулирование интернализации DR4 и DR5. Дефицит DR4/5 на клеточной поверхности может быть опосредован различными механизмами интернализации рецепторов, такими как, быстрый клатрин-зависимый эндоцитоз, клатрин-независимый эндоцитоз, лизосомальная деградация рецепторов или их солокализация с аутофагосомами (Akazawa et al., 2009; Chen et al., 2012; Di et al., 2013; Kohlhaas et al., 2007). Есть данные, что для TRAIL, в отличие от ФНО α и FasL, не требуется интернализации рецепторов для индукции апоптотического сигнального каскада, однако, эндоцитоз DR4 и DR5 после лигирования TRAIL может оказывать сильное влияние на передачу апоптотического сигнала (Kohlhaas et al., 2007). Лигирование DR5 приводит к активации клатрин-зависимого эндоцитоза рецептора, что усиливает передачу сигнала и активность каспаз, и наоборот, снижение эндоцитоза приводит к ослаблению передачи апоптотического сигнала с DR5 (Austin et al., 2006). В тоже время, эндоцитоз TRAIL-рецепторов может способствовать приобретенной резистентности к TRAIL, посредством усиления регуляции ингибиторов апоптоза, предотвращая активацию каспаз, и ингибируя митохондриальный каскад (Yoshida et al., 2009; Zhang, Yoshida, Zhang, 2009). Также есть данные о том, что лигирование DR4 приводит к интернализации рецептора, и об усилении TRAIL-индуцированного апоптоза при её блокировании в опухолевых клетках (Zhang, Yoshida, Zhang, 2009). В тоже время, показано, что нокдаун адаптерного белка 2 (AP2) или клатрина значительно увеличивал экспрессию DR4 и DR5 на клеточной поверхности опухолевых клеток с сохранением общего уровня белков рецепторов, что повышало чувствительность клеток к действию TRAIL (Zhang, Zhang, 2008). Однако также показано, что чувствительность опухолевых клеток может быть не связана со скоростью TRAIL-опосредованного эндоцитоза DR-рецепторов. Вероятно, что постэндоцитарные события, такие как скорость диссоциации DISC и накопления рецепторов в разных компартментах или скорость их деградации, играют значительную роль в запуске апоптотической передачи сигналов TRAIL (Artykov et al., 2021). Например, комплексы рецепторов с TRAIL могут подвергаться деградации путем убиквитинирования с помощью убиквитин-протеинлигазы c-Cbl, а для Cbl-b показано участие в подавлении поверхностной экспрессии DR4/5 через сигнальные пути JNK и MAPK (Kim, Kim, Song, 2013; Yan et al., 2012).

Также выявлено, что до окончания формирования устойчивого комплекса рецептора DR4/5 с TRAIL может происходить быстрый клатрин- и динамин-зависимый эндоцитоз из-за неправильного распределения сортировочных дилейционных сигналов (Zhang, Zhang, 2008). В некоторых работах показано, что DR4/5 локализуются преимущественно в цитозоле в устойчивых к TRAIL опухолевых клетках, что ведет к дефициту DR4/5 на мембране (Chen et al., 2012). Ингибирование же эндоцитоза вызывает сфокусированную

локализацию рецепторов на поверхности, усиление передачи сигналов DISC и активацию каспаз (Akazawa et al., 2009).

Клатрин-независимый эндоцитоз TRAIL-рецепторов, опосредованный флоттилином-1 и кальвеолином, может регулироваться с помощью ГТФазы HRas в устойчивых к TRAIL опухолевых клетках. Во время клатрин-независимого эндоцитоза HRas локализуется на эндосомальной мембране и потенциально может помогать избежать гибели клеток за счет регулирования неправильной локализации DR4 и DR5 (Chen et al., 2014).

Лизосомальная деградация TRAIL-рецепторов. После эндоцитоза комплекс DR4/5-TRAIL может подвергаться эндосомальной pH-зависимой деградации, активируемой каспазой, что приводит к диссоциации комплекса DISC и домена смерти (DD) рецептора, или комплекс DR4/5-TRAIL может быть доставлен в лизосому с помощью белка транспортера Rab 7 для последующей деградации (Akazawa et al., 2009). Также показано, что лигирование TRAIL с DR4 или DR5 вызывает каспазы-8-зависимое высвобождение катепсина В из лизосом, что инициирует высвобождение цитохрома С из митохондрий и последующую активацию каспазы-3 (Werneburg et al., 2007). В целом лизосомальная деградация предотвращает рециркуляцию рецепторов смерти обратно на плазматическую мембрану для повторного лигирования TRAIL.

В дополнение было выявлено, что лигирование DR4 или DR5 в TRAIL-устойчивых опухолевых клетках, обладающих высокой экспрессией FLIP, вызывало увеличение продукции аутофагических белков, а высокое количество цитозольных аутофагосом со локализованных совместно с DR4 и DR5, способствует деградации данных рецепторов, что говорит об защитной функции аутофагии (Di et al., 2013; Han et al., 2008). Выявлено, что ингибирование Beclin-1-зависимой аутофагии увеличивает TRAIL-индуцированный апоптоз опухолевых клеток (Han et al., 2008). Сообщалось о совместной локализации DR4/5 рецепторов с фагосомально-ассоциированным белком LC3-II в аутофагосомах у TRAIL-резистентных опухолевых клеток. Разрушение таких базальных аутофагосом успешно восстанавливало поверхностную экспрессию рецепторов смерти, что сопровождалось сенситизацией резистентных опухолевых клеток к цитотоксическому действию TRAIL. Также выявлено, что некоторые TRAIL-чувствительные опухолевые клеточные линии характеризуются высокими уровнями поверхностной представленности DR4/5 и отсутствием базальных аутофагосом. В таких клетках ингибирование лизосомной активности индуцировало накопление аутофагосом и снижение поверхностной экспрессии рецепторов смерти, что приводило к снижению чувствительности к TRAIL-индуцированному апоптозу (Di et al., 2013).

1.3.3 Участие липидных рафтов в регуляции динамики проапоптотических TRAIL-рецепторов на внешней клеточной мембране

Липидные рафты представляют собой небольшие, гетерогенные и высокодинамичные липидные домены в клеточной мембране, богатые сфинголипидами и холестерином (Pike, 2006). Основная особенность липидных рафтов заключается в их способности динамически рекрутировать или исключать сигнальные белки, транслоцировать рецепторы и регуляторные молекулы, поэтому данные липидные структуры могут выступать как платформы для модулирования передачи сигнала. Липидные рафты регулируют пространственную локализацию, кластеризацию и активность рецепторов, стимулируя либо подавляя сигнальные каскады, которые играют важную роль в выживании, гибели и метастазировании опухолевых клеток (Mollinedo, Gajate, 2020). Известно, что липидные рафты занимают не последнюю роль в регуляции гибели клеток, опосредованной рецепторами гибели (Li et al., 2022). Так, обработка опухолевых клеток TRAIL может запускать перераспределение рецепторов DR4 и/или DR5 в липидные рафты, усиливая апоптотический сигнал, а ингибирование агрегации липидного рафта и кластеризации DR4 и DR5 может приводить к формированию устойчивости к TRAIL-индуцированному апоптозу в опухолевых клетках, в том числе лейкозных (Marconi et al., 2013; Ouyang et al., 2013). Отсутствие кластеризации рецепторов смерти с последующей сборкой DISC в неплотной области плазматической мембраны может быть опосредовано белками cFLIP и RIP, что приводит к ингибированию расщепления каспазы-8, активации NF- κ B и ERK1/2 и подавлению апоптоза (Song et al., 2007).

Семейство малых ГТФаз Ras, включая HRas, KRas и NRas, активируется при лигировании рецепторов различных факторов роста. Активация Ras индуцирует запуск сигнального каскада с участием киназы Raf/MAP, PI3K и других эффекторов, тем самым способствуя пролиферации, выживанию и трансформации клеток (Holderfield, Nagel, Stuart, 2014). В обширном исследовании ген HRas был идентифицирован как единственный ген, сверхэкспрессия мРНК которого была значительно повышена в TRAIL-резистентных опухолевых клетках, и не было обнаружено корреляции между чувствительностью TRAIL и экспрессией KRas или мутационными профилями Ras (Xu et al., 2013). Также известно, что ГТФаза HRas, но не KRas, может быть прикреплена к липидным рафтам путем пальмитоилирования С-концевого домена, что указывает на возможную роль HRas в секвестрации DR4/5 в липидных рафтах (Resh, 2006). Более того, известно, что именно неактивная форма H-Ras, связанная с ГТФ, связывается с липидными рафтами, это может служить дополнительным объяснением того, почему направленная сверхэкспрессия Ras в

некоторых случаях не приводит к устойчивости к TRAIL (Kanzaki et al., 2013). Таким образом, экспрессия HRas может служить потенциальным биомаркером для прогнозирования резистентности опухоли к терапии, направленной на DR4 и DR5.

1.3.4 Сенситализация клеток к TRAIL-индуцированной гибели с помощью индукции экспрессии проапоптоических рецепторов DR4 и DR5

Для повышения эффективности TRAIL-индуцированного апоптоза в отношении опухолевых клеток применяют различные агенты в комбинации с TRAIL, целью чего является либо синергизм активности TRAIL, либо сенситализация устойчивых к TRAIL опухолевых клеток. Различные агенты могут повышать чувствительность лейкозных клеток к апоптозу, либо непосредственно влияя на экспрессию, рекрутирование и сборку DR4 и DR5 на клеточной поверхности, либо влияя на активность и экспрессию нижележащих эффекторов, таких как про- и антиапоптоические белки, каспазы и сигнальные молекулы (Samudio et al., 2010). Комбинаторные стратегии повышения чувствительности клеток к TRAIL в основном действуют посредством активации стресса эндоплазматического ретикулума (ЭПР-стресса), что приводит к усилению экспрессии DR5 и/или DR4 (Moon et al., 2013). ЭПР-стресс в первую очередь вызывает высвобождение активных форм кислорода (АФК) (170, 227), что считается центральной контрольной точкой, из которой могут запускаться несколько сигнальных путей (Moon et al., 2010). Другой контрольной точкой является активация CHOP через p38 / внеклеточно-регулируемую сигнальную киназу (ERK) MAPK, которые, в свою очередь, увеличивают транскрипцию DR5, усиливают проапоптоические белки (например, Bim) или подавляют антиапоптоические белки Bcl-2 и Mcl-1 (Martin-Perez, Niwa, Lopez-Rivas, 2012; Woo et al., 2013). Третий член семейства MAPK, N-концевая киназа c-Jun (JNK), также может активировать DR5 (через механизм, опосредованный Sp1) и подавлять Bcl-2 и Mcl-1 (Sung et al., 2012). АФК также могут вызывать повреждение ДНК и активацию p53, что приводит к прямой индукции DR5 (внешний путь апоптоза) или модуляторов апоптоза PUMA, белка, Noxa и Bax (внутренний путь апоптоза) (Kannappan et al., 2010; Park et al., 2013).

Также было показано, что некоторые ингибиторы HDAC при клиническом применении сенситализуют лейкозные клетки к TRAIL, способствуя образованию активного DISC и увеличивая экспрессию DR4 и DR5 (Zhang et al., 2019). Показано, что воздействие туникамицином, а также пакселином, стимулирует экспрессию DR4/5 на клеточной поверхности через активацию ЭПР-стресса, повторно сенситализуя устойчивые клетки к TRAIL (Kang et al., 2011). Также применение фармакологических ингибиторов эндоцитоза или подавление клатрин-зависимых сигнальных молекул эндоцитоза облегчает экспрессию DR4/5 на клеточной поверхности и делает резистентные

опухолевые клетки восприимчивыми к TRAIL-индуцированному апоптозу (Zhang, Zhang, 2008). Кроме того, производные тритерпеноидов могут сделать опухолевые клетки чувствительными к TRAIL-индуцируемому апоптозу *in vitro* и *in vivo* в основном за счет индукции экспрессии DR5 и активации ССАТ/энхансер-связывающих белков (С/ ЕВР), участвующих в ЭПР-стрессе (Li et al., 2017a).

Одним из наиболее мощных сенситизаторов к агонистам TRAIL-рецепторов является ингибитор протеасом бортезомиб. В основе бортезомиб-зависимой сенситизации к TRAIL опухолевых клеток, лежит стимуляция апоптоза за счет увеличения экспрессии рецепторов смерти, снижения cFLIP и усиления активации каспазы 8, а также модуляция белков семейства Bcl-2 и ингибиторов белков апоптоза IAP. Одновременно подавляются сигналы NF-κB и Akt, способствующие выживанию (Wilt de et al., 2013).

Поскольку DR5 является p53-чувствительным геном, многие генотоксические химиопрепараты (хлорамбуцил, флударабин, цитозинарабинозид, даунорубин и триоксид мышьяка) повышают чувствительность лейкозных клеток к TRAIL-индуцированному апоптозу через p53-опосредованную индукцию экспрессии DR5 (Jones et al., 2003). Также цисплатин показал синергетическое влияние на TRAIL-индуцированный апоптоз в опухолевых клетках в основном опосредованное активацией DR4. Кроме того, цисплатин может индуцировать апоптотический путь TRAIL за счет повышения экспрессии DR5 и подавления c-FLIP (Ding et al., 2011).

Кроме того, показано, что флавоноиды ресвератрол и апигенин могут вызывать каспазозависимый апоптоз, повышать активность каспазы-3 и -7 и уровни белков p53 и DR5 в опухолевых клетках после комбинированной терапии с TRAIL (Toume et al., 2015). Также флавоноид кемпферол может сенситизировать опухолевые клетки к TRAIL через повышение регуляции DR4/5, CHOP, JNK, ERK1/2, p38 и подавление экспрессии Bcl-2, Bcl-Xl, сурвивина, XIAP и c-FLIP (Zhao et al., 2017). Аналогично, CHOP-опосредованное повышение экспрессии DR5 было выявлено при обработке опухолевых клеток TRAIL совместно с капсаицином, а также силибинином (Kim et al., 2010; Son et al., 2007). Кроме того, исследования на лейкозных клетках показали, что кемпферол может действовать как сенситизатор, приводящий к устойчивому TRAIL-опосредованному апоптозу в клетках за счет повышения экспрессии DR4/5, снижения экспрессии NF-κB и подавления экспрессии c-FLIP, XIAP и cIAP1 (Hassanzadeh et al., 2019). Аналогичные механизмы участвуют в стимуляции TRAIL-опосредованного апоптоза в лейкозных клетках при комбинированном применении TRAIL и флавоноида кверцетина (Naimi et al., 2019).

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Материалы

MitoTracker Green FM, LysoTracker Green DND-26, pHrodo Green *E. coli*, DAF-FMDA, и SYBER Green были получены из Thermo Scientific, США. Фетальная бычья сыворотка из Gibco, США. Буфер для окрашивания клеток, набор для выделения моноцитов MojoSort Human Pan Monocyte Isolation kit, блокирующий раствор для Fc-рецепторов Human TruStain FcX, антитела PE anti-human Ki-67, изотипические контрольные антитела PE Mouse IgG1 k isotype Ctrl, APC Mouse IgG1 k isotype Ctrl, FITC Mouse IgG1 k isotype Ctrl, PE Mouse IgG2a k isotype, а также антитела APC anti-human CD11b, FITC anti-human CD11a, PE anti-human CD284, PE anti-human CD36, PE anti-human CD33, PE anti-human HLA-DR, PE anti-human CD262 (DR5, TRAIL-R2), APC anti-human CD261 (DR4, TRAIL-R1) и PE anti-human CD264 (DcR2, TRAIL-R4) были получены из BioLegend, США. Набор для определения микоплазмы MycoFluor™ был получен от Molecular Probes Inc., США. Антитела FITC Mouse anti-human CD163, FITC anti-human CD68 и Alexa Fluor 647 Mouse anti-human CD263 (DcR1, TRAIL-R3) были получены из BD Bioscience, США. Культуральные среды DMEM, F12 и RPMI 1640, раствор трипсина (0.025%) и EDTA (0.01%), Calcein AM, bisbenzimidazole Hoechst 33342 (H-33342), 2',7'-диацетат дихлорфлуоресцеина (DCHFDA), йодид пропидия (PI), резазурин, форболовый эфир (форбол-12-миристинат-13-ацетат), Phalloidin Atto-633, раствор Accutase, липополисахарид из *E. coli* O111: B4, антитела FITC anti-human CD11c, FITC anti-human CD14, FITC anti-human CD45 были получены от Sigma-Aldrich, США.

2.2. Методы

2.2.1 Клеточные культуры

В работе использовали клетки острого миелоидного лейкоза человека THP-1, полученные из Американской коллекции типовых клеточных культур (ATCC, США). Клетки культивировали в среде RPMI 1640/F12 с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС) и 40 мкг/мл гентамицина сульфата (Sigma, США) при 37°C, в условиях 5% содержания CO₂ в воздухе.

Для индукции макрофагальной дифференцировки клетки THP-1 инкубировали с 200 нМ форболового эфира (PMA) в течение 96 ч. (Daigneault et al., 2010; Forrester et al., 2018).

Макрофаги получали из моноцитов периферической крови человека. Моноциты были получены из мононуклеарной фракции периферической крови здоровых доноров с использованием набора MojoSort Human Pan Monocyte Isolation Kit в соответствии с рекомендациями производителя. Для получения макрофагов моноциты культивировали в

среде DMEM/F12 с добавлением 10% ЭТС, 40 мкг/мл гентамицина при 37°C, в условиях 5% содержания CO₂ в увлажненном воздухе. Питательную среду заменяли на свежую через 3 дня после посева клеток с добавлением 2% FBS. Через 14 дней культивирования моноциты поляризовались в макрофаги, и их использовали в экспериментах. Коктейль Accutase применяли для отделения макрофагов от поверхности культурального пластика.

Оригинальные макрофагоподобные клоны THP-1ad культивировали в среде DMEM/F12 с добавлением 10% FBS, 40 мкг/мл гентамицина сульфата (Sigma, США), при 37°C, в условиях 5% содержания CO₂ в воздухе.

Тестирование клеточных культур на заражение микоплазмой проводили с помощью набора для определения микоплазмы MycoFluor. Заражение культур клеток микоплазмой не выявлено.

2.2.2 Протокол получения белка izTRAIL

Рекомбинантный человеческий белок TRAIL, содержащий последовательность изолейцинового zipper (izTRAIL), получен в соответствии с методикой (Fadeev et al., 2019) и предоставлен А.В. Чекановым. Для получения растворимой тримерной формы белка izTRAIL был синтезирован мотив изолейциновой “молнии” и ген izTRAIL, которые были клонированы в плазмидный вектор pET101 (Novagen, США). Полученным вектором трансформировали клетки *E. coli* BL21 (DE3) и методом микробного синтеза с последующей очисткой металл-аффинной хроматографией получили тримерную форму izTRAIL с молекулярной массой около 80 кДа.

2.2.3 Анализ пролиферативной активности и ДНК-цитометрия

Клетки высевали в 96-луночные планшеты в концентрации 5×10^3 клеток на лунку в 100 мкл питательной среды и культивировали в CO₂-инкубаторе. Количество клеток в суспензии и их жизнеспособность анализировали с помощью проточного цитометра BD Accuri C6 (BD Bioscience, США). Жизнеспособность клеток оценивали после окрашивания их в суспензии в культуральной среде с 200 нМ флуоресцентного красителя Calcein AM и 1 мкг/мл йодистого пропидия. Пролиферативную активность клеток оценивали по экспрессии ядерного антигена Ki-67, а также с помощью анализа митотической активности. Для анализа экспрессии Ki-67 использовали антитела PE anti-human Ki-67, в качестве контроля изотипа антитела использовали PE Mouse IgG1 k isotype Ctrl. Окрашивание антителом проводили по протоколу, рекомендованному производителем, и оценивали с помощью проточного цитометра BD Accuri C6.

Митотические клетки оценивали по флуоресценции клеток, окрашенных ядерным красителем H33342 в концентрации 1 мкг/мл, и подсчету числа клеток в фазе митоза с

помощью флуоресцентного микроскопа DM 6000 (Leica, Германия). Общее количество проанализированных клеток в случайно выбранных полях было не менее 500.

Распределение по фазам клеточного цикла оценивали с помощью анализа содержания ДНК на проточном цитометре BD Accuri C6. Для оценки содержания клеточной ДНК клетки суспендировали в PBS, фиксировали 70% этанолом и окрашивали 1 мкг/мл йодида пропидия. Распределение клеток по фазам клеточного цикла анализировали с использованием программного обеспечения ModFit LT 4.1 (Verity Software House, США).

2.2.4 Анализ коротких tandemных повторов (STR)

STR-локусы и ген половой принадлежности - амелогенин амплифицировали с использованием набора COrDIS plus kit (Гордиз, Россия) (выявление амелогенина, D5S818, D21S11, D7S820, CSF1PO, D2S1338, D3S1358, vWA, D8S1179, D16S539, TPOX, TH01, D19S433, D18S51, FGA и D13S317) в соответствии с инструкциями производителя в системе GeneAmp®PCR 9700 (Thermo Fisher Scientific, США). Электрофоретический анализ проводили с использованием анализатора ДНК 3730/3130xl (Thermo Fisher Scientific, США). После электрофореза данные анализировали с помощью программного обеспечения Gene Mapper® ID-X v1.5 (Thermo Fisher Scientific, США) для классификации пиков по размеру относительно внутренней стандартной аллельной лестницы.

2.2.5 Секвенирование транскриптомов клеток

Секвенирование РНК для последующей оценки транскриптомов клеток проводили в ООО «Геноаналитика» (Москва, Россия) с использованием секвенатора HiSeq 1500 (Illumina, США). РНК-секвенирование каждой из двух исследованных групп клеток выполняли в трёх биологических повторностях.

2.2.6 Анализ дифференциальной экспрессии генов

Для идентификации различий в экспрессии генов между макрофагоподобными клонами THP-1ad и родительскими клетками THP-1 был произведен кластерный анализ и анализ методом главных компонент с использованием языка программирования Python (в. 3.10.5) и пакета Scikit-learn (в. 1.3.2). Кластерный анализ производился с применением алгоритма k-средних для выявления закономерностей экспрессии и выявления на основе этих данных групп по схожести экспрессий для генов с достоверными изменениями экспрессии. Для метода главных компонент использовался весь набор данных идентифицированных транскриптов.

Для исследования активации сигнальных путей у макрофагоподобных клонов THP-1ad в сравнении с родительскими клетками THP-1 использовали анализ обогащения по функциональной принадлежности (GSEA) (Subramanian et al., 2005). В работе

анализировали наборы генов из коллекций H (Hallmark) и C3 (наборы генов Transcription Factor Targets) базы данных молекулярных сигнатур MSigDB (<https://www.gsea-msigdb.org/gsea/msigdb/human/collections.jsp>) с использованием программного пакета для языка программирования Python (вер. 3.10) GSEAPy (вер. 1.0.5). В качестве критерия активации сигнальных путей и транскрипционных факторов (ТФ) применялось значение показателя обогащения (ПО). Дополнительно применялся нормализованный показатель обогащения (НПО), который позволяет производить сравнение между наборами генов, содержащими различное количество генов. Чем больше значение НПО или ПО, тем выше вероятность активации сигнального пути или ТФ.

Функциональную аннотацию дифференциально экспрессируемых генов (ДЭГ) производили с использованием интернет-ресурса Генная онтология – GO (<http://geneontology.org/>), в категориях MF (молекулярные функции), BP (биологические процессы), CC (клеточные компоненты), а также с использованием интернет-ресурса Киотская энциклопедия генов и геномов – KEGG (<https://www.genome.jp/kegg/>), базы данных Reactome (<https://reactome.org/>) и интернет-ресурса WikiPathways (<https://www.wikipathways.org/>).

С целью определения ДЭГ продукты которых могут принимать участие в регуляции исследуемых сигнальных путей, были построены сети белок-белковых взаимодействий (ББВ) и проведен анализ их функционального взаимодействия для идентификации центральных регулирующих элементов на основе базы данных STRINGdb (<https://string-db.org/>) с использованием программного обеспечения Cytoscape (вер. 3.10.0) и подключаемого модуля CytoHubba, (Chin et al., 2014).

2.2.7 Количественная ПЦР с обратной транскрипцией

Выделение тотальной РНК проводили с использованием набора innuPREP RNA Mini Kit 2.0 (Analytik Jena, Германия). Синтез и амплификацию кДНК проводили с использованием набора OneTube RT-PCR SYBR (Евроген, Россия) на приборе QuantStudio 5 Real-Time PCR (Thermo Scientific, США) согласно инструкции производителя. Олигонуклеотидные праймеры были синтезированы в ЗАО Евроген (Москва, Россия). В работе были использованы следующие праймеры, приведённые в таблице 1:

Таблица 1. Праймеры, используемые в работе.

NAIP	F: GGGGACTTCGTCTGGGATTC; R: CTGGCCAGTGGAAGGAAAGT;
BIRC2	F: CTGATTCCCGGCTCTGCG; R: AGCACGAGCAAGACTCCTTT;
BIRC3	F: TCCATGGGTTCACATGCCA; R: CTCCTGGGCTGTCTGATGTG;
XIAP	F: TGGCGCTCATCGAGGGA; R: TGTCTGCAGGTACACAAGTTTTAG;
BIRC5	F: TTCAAGGAGCTGGAAGGCTG; R: GCAACCGGACGAATGCTTTT;
BIRC6	F: AGAAAGGGATGATGCAAGTACG; R: CTACCTGGGCTGCTGAACTC;
BIRC7	F: GGCCTCCTTCTATGACTGGC; R: GCAGAAGAAGCACCTCACCT;
BIRC8	F: GGAGAGGAAAAGCGTTGTGC; R: TCTTCACTATGCATGGCGGG;
BCL2	F: CAACATCGCCCTGTGGATGA; R: CCGTACAGTTCCACAAAGGC;
BCL2L1	F: GGCTTGTTTCGGGAGAGACG; R: CACTGAGTCTCGTCTCTGGTT;
MCL1	F: TGGAGACCTTACGACGGGTT; R: AGCACATTCTGATGCCACC;
BCL2L2	F: CGACTGTGACTCTGCTGCAA; R: TCTCCCTGACTCGAGCTTTG;
BCL2A1	F: GGATAAGGCAAAACGGAGGC; R: TCTTCTTGTTGGGCCACTGAC;

2.2.8 Анализ жизнеспособности

Клетки высевали в 96-луночные планшеты в количестве 5×10^3 клеток в 100 мкл питательной среды на лунку. Белок izTRAIL добавляли через 24 ч. после посева клеток. Жизнеспособность клеток оценивали по соотношению количества живых клеток в опытной и контрольной (без препаратов) культурах через 24 ч. после добавления препаратов по восстановлению резазурина. Для этого клетки инкубировали с резазурином (30 мкг/мл) в течение 4 ч при 37°C и 5% CO₂, а затем измеряли интенсивность флуоресценции инкубационной среды при длине волны возбуждения 532 нм и поглощения 590 нм, используя планшетный спектрофлуориметр Infinity F200 (Tecan, Австрия).

2.2.9 Анализ морфологии клеток

Микрофотографии клеток в проходящем свете получали с использованием микроскопической станции Eclipse Ti-E (Nikon, Япония).

Для анализа актинового цитоскелета клетки фиксировали в 4% растворе параформальдегида, пермеабелизовали в течение 10 мин в буфере для внутриклеточного

окрашивания (Biolegend, США) и окрашивали Phalloidin Atto-633 (1 нМ), Hoechst 33342 (1 мкг/мл) и Calcein AM (0,2 мкМ) в течение 25 мин. в темноте при комнатной температуре. Микрофотографии клеток получали с помощью конфокального лазерного сканирующего микроскопа TCS SP5 (Leica, Германия).

2.2.10 Анализ адгезии клеток

Клетки THP-1ad высевали в количестве 3×10^4 на лунку 96-луночного планшета в 100 мкл питательной среды с добавлением моноклональных антител против интегрина $\alpha V\beta 3$ (Abcam, Великобритания), против интегрина $\alpha V\beta 5$ (R&DSYSTEMS, США), либо с добавлением изотипического контроля антител IgG1 мыши (Biolegend, США) в концентрации 17 мкг/мл или с добавлением антагониста αV -интегринов Cilengitide (Selleckchem, США) в концентрации 20 мкМ. Клетки инкубировали в течение 24 ч. с агентами в условиях CO₂-инкубатора. Анализ клеточной адгезии проводили путем подсчета клеток, окрашенных SYBER Green, с использованием ImageXpress® Micro XL (Molecular Devices, США) до и после отмывания неприкреплённых клеток.

2.2.11 Анализ фагоцитарной активности

Фагоцитарную активность оценивали через 2 ч. инкубации клеток в ростовой среде с добавлением 1 мг/мл pHrodo Green *E. coli* (ThermoFisher Scientific, США). Для контроля неспецифического окрашивания клетки инкубировали с 10 мкг/мл цитохалазина D (Sigma, США) в течение 30 мин. в CO₂-инкубаторе, затем добавляли 1 мкг/мл pHrodo Green *E. coli* и продолжали инкубацию еще 2 ч. Флуоресценцию измеряли с помощью проточного цитометра BD Accuri C6.

2.2.12 Анализ окислительной активности, продукции NO, содержания митохондрий и лизосом

Индукцируемую и конститутивную внутриклеточную окислительную активность оценивали с использованием зонда DCFH-DA (возбуждение 485 нм, эмиссия 530 нм). Для изучения индуцируемой и конститутивной внутриклеточной окислительной активности клетки предварительно инкубировали с 10 мкг/мл ЛПС из *E. coli* O111: B4 в течение 24 ч. или инкубировали в питательной среде в течение 24 ч., соответственно. Далее клетки нагружали 10 мкМ DCFHDA в ростовой среде в течение 15 мин. Затем клетки отмывали в PBS и анализировали флуоресценцию с помощью проточного цитометра BD Accuri C6.

Для оценки внутриклеточной продукции оксида азота (NO) клетки окрашивали 5 мкМ DAF-FM DA и инкубировали в течение 40 мин. в CO₂-инкубаторе. Затем клетки промывали свежей питательной средой и инкубировали еще 30 мин. в CO₂-инкубаторе. Для изучения индуцируемой продукции NO клетки предварительно инкубировали с 10 мкг/мл

ЛПС из *E. coli* O111: B4 в течение 24 ч. Флуоресценцию клеток анализировали с помощью проточного цитометра BD Accuri C6.

Для оценки митохондриальной и лизосомальной массы клетки окрашивали 100 нМ MitoTracker Green и 75 нМ LysoTracker Green DND-26, соответственно. Инкубировали в течение 30 мин. в условиях CO₂-инкубатора. Определение проводили с помощью проточного цитометра Accuri C6.

2.2.13 Иммунофенотипирование и анализ экспрессии рецепторов к TRAIL

Для анализа поверхностной экспрессии кластеров дифференцировки (CD) клетки собирали из культуральных флаконов, отмывали в буфере для окрашивания клеток (BioLegend, США) путем центрифугирования при 300g, 5 мин. Окрашивание проводили с использованием панели моноклональных антител: APC anti-human CD11b, FITC anti-human CD11c, FITC anti-human CD14, PE anti-human CD33, PE anti-human CD36, FITC anti-human CD45, FITC anti-human CD163, FITC anti-human CD64, PE anti-human CD284, PE anti-human CD68, PE anti-human HLA-DR.

Для анализа поверхностной экспрессии TRAIL-рецепторов использовали: PE anti-human TRAIL-R1 (CD261) (BD Bioscience, США), APC anti-human CD262 (TRAIL-R2) (BioLegend), FITC Anti-human CD263 (TRAIL-R3) (BD Bioscience), PE antihuman CD264 (TRAIL-R4) (BioLegend).

Для определения неспецифического связывания клетки окрашивали контрольными антителами изотипа: APC Mouse IgG1 k isotype Ctrl, FITC Mouse IgG1 k isotype Ctrl, PE Mouse IgG1 k isotype, PE Mouse IgG2a k isotype, APC Mouse IgG2a k isotype, полученными от BioLegend, США.

Окрашивание проводили при комнатной температуре в темноте в течение 30 мин. После окрашивания клетки фиксировали 2% раствором ПФА. Анализ поверхностной экспрессии CD проводили с помощью проточного цитометра BD Accuri C6. Гистограммы экспрессии поверхностных маркеров получали с помощью программы FlowJo v10 (BD Biosciences, США).

2.2.14 Иммунофлуоресцентный анализ продукции цитокинов

Культуральную среду отбирали через сутки после посева клеток в концентрации 5×10^4 клеток/мл, центрифугировали (300xg, 5 мин) и супернатант использовали для анализа. Содержание цитокинов оценивали с помощью коммерческого набора Bio-Plex Pro Human Cytokine Grp I Panel 27-plex (Bio-Rad, США) по протоколу, рекомендованному производителем, с использованием анализатора Bio-Plex MAGPIX (Bio-Rad, США).

2.2.15 Статистическая обработка данных

Результаты представляли в виде среднего $\pm$ стандартное отклонение ($M \pm SD$). Опыты проводили не менее чем в пяти повторах ($n \geq 5$). Статистическую значимость отличия определяли с помощью одностороннего ANOVA с последующим множественным сравнением Холма-Сидака, $p < 0.05$. Для идентификации достоверности изменения экспрессии генов производилась статистическая обработка с применением теста Вальда с поправкой на множественное сравнение Беньямини-Хохберга ($FDR \leq 0.05$) (Benjamini, Hochberg, 1995). Изменение экспрессии генов представлено в виде логарифма по основанию два кратности изменения ($\log_2(KI) \pm$ стандартная ошибка кратности изменения (SE)).

3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Получение клеток ОМЛ, способных к адгезии и распластыванию на ВКМ, в условиях долговременной трехмерной суспензионной культуры высокой плотности

Известно, что признаки хронического воспаления характерны для микроокружения (ниши) костного мозга при остром миелоидном лейкозе (Récher, 2021; Cook, Luo, Rauh, 2020). Такие условия хронического воспаления в патологическом костном мозге защищают лейкозные клетки от гибели, вызванной противоопухолевыми препаратами, а также компонентами противоопухолевого иммунитета, что является маркером плохого прогноза течения заболевания (Ellegast et al., 2022; Lasry et al., 2022; Zhong et al., 2022). В то же время обнаружено, что активация провоспалительных сигнальных путей стимулирует дифференцировку нормальных «неопухолевых» моноцитов и гемопоэтических клеток-предшественников в миелоидном направлении (Hernandez et al., 2020; Maltby et al., 2014; Mysore et al., 2022; Villar et al., 2023). Относительно клеток ОМЛ известно, что провоспалительная активация с помощью бактериальных липополисахаридов (ЛПС), также может индуцировать их «созревание» (дифференцировку) в макрофагоподобном направлении (Kim, Hwang, Lee, 2022). В свою очередь, накапливаются данные о способности клеток ОМЛ со «зрелым» (дифференцированным) фенотипом не только подавлять активность противоопухолевого иммунитета, но становиться более устойчивыми к действию ряда противоопухолевых препаратов (Bottomly et al., 2022; Van Galen et al., 2019; Yoyen-Ermis et al., 2019). Таким образом, условия хронического воспалительного процесса в костном мозге при ОМЛ могут приводить к активации специфического состояния у лейкозных клеток, имеющего общие черты с «созреванием» дифференцировкой нормальных гемопоэтических предшественников. В свою очередь, формирование устойчивого «зрелого» клона лейкозных бластов потенциально может лежать в основе прогрессии и первичной резистентности ОМЛ к терапии.

Ранее нашим коллективом была создана *in vitro* модель, имитирующая условия провоспалительного микроокружения лейкозных клеток, представляющая собой долговременные трехмерные суспензионные культуры клеток ОМЛ высокой плотности (Kobyakova et al., 2022). Далее в работе с использованием данной клеточной модели была проведена оценка принципиальной возможности появления более «зрелых» (дифференцированных) клонов клеток ОМЛ в условиях *in vitro* при имитации условий провоспалительного микроокружения.

Для этого моноцитоподобные клетки ОМЛ ТНР-1 высевали в концентрации 5×10^3 клеток в 100 мкл (5×10^4 кл/мл) питательной среды в U-образные лунки 96-луночного планшета, покрытые фибронектином, и культивировали в течении 10 суток без смены питательной среды. Через 10 суток культивирование останавливали, так как культура уже находилась в стационарной фазе роста, количество клеток составляло $2,8 \pm 0,3 \times 10^5$ клеток в лунке ($2,8 \pm 0,3 \times 10^6$ кл/мл), количество погибших клеток в культуре составляло $8,8 \pm 0,5\%$ (Рис. 4 А, Б). Дополнительно через 10 суток культивирования было показано увеличение концентрации лактата до $12,7 \pm 0,9$ мМ, снижения глюкозы до $2,9 \pm 0,8$ мМ и снижение pH до $6,8 \pm 0,2$. Все выше сказанное указывало на формирование неблагоприятных условий для культивирования клеток.

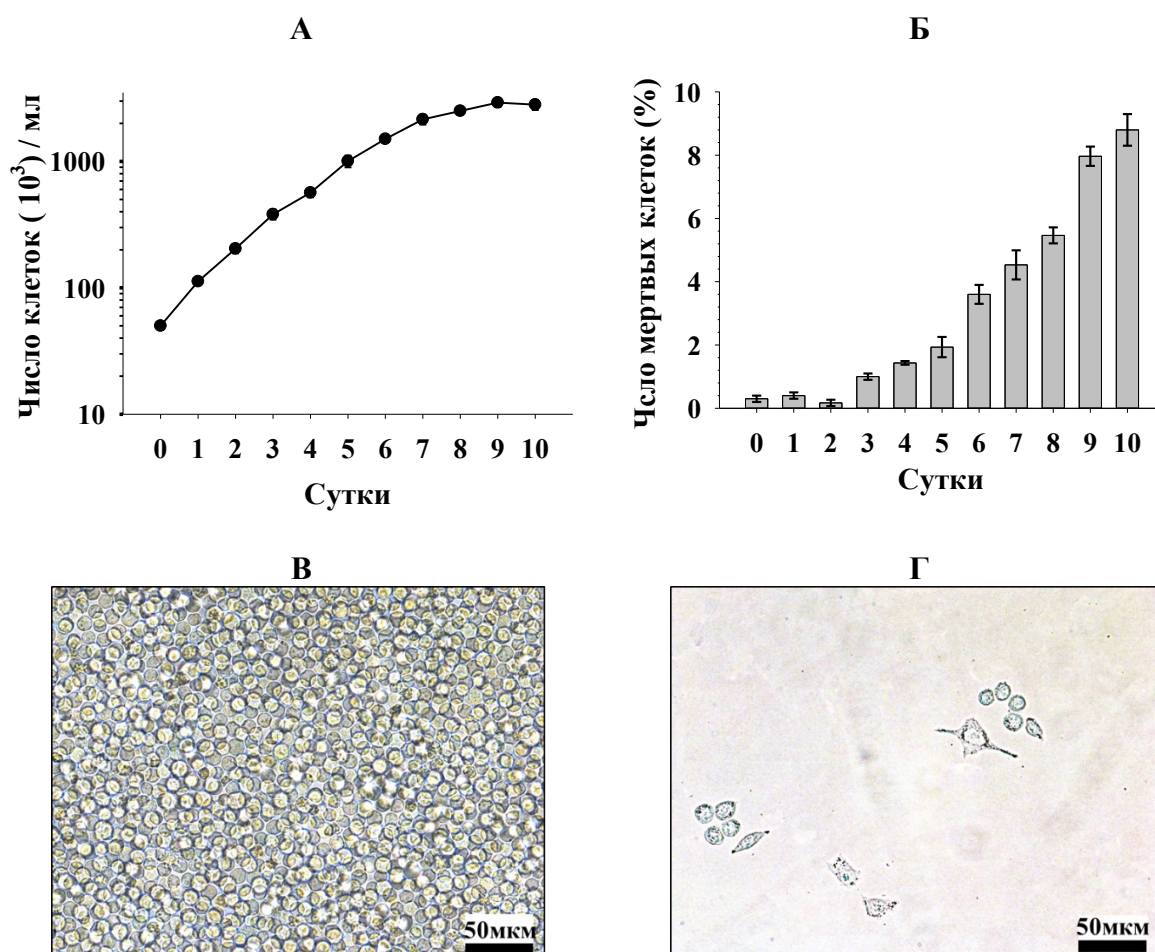


Рисунок 4. Характеристика условий получения и внешний вид клеток ОМЛ ТНР-1ad, способных к прикреплению и распластыванию на твердом субстрате. Кривая роста клеток ТНР-1 (А) и анализ числа мертвых клеток ТНР-1 (Б) в долговременной трехмерной культуре высокой плотности. Данные приведены в виде среднего значения $\pm$ SD, ($n \geq 5$). Внешний вид клеток ТНР-1 в долговременной трехмерной суспензионной культуре высокой плотности на 7 сутки культивирования (В); Внешний вид клонов ТНР-1ad, способных к прикреплению и распластыванию на твердом субстрате, через 7 суток культивирования в долговременной трехмерной культуре высокой плотности (Г).

В качестве быстрого и простого критерия идентификации более «зрелых», как предполагалось, макрофагоподобных клонов, использовали прикрепление (адгезию) данного типа клеток к фибронектину, одному из основных белков внеклеточного матрикса (ВКМ) (Brilha et al., 2017; Digiacomo et al., 2017; Sikkema et al., 2018). Оценку появления клонов способных к прикреплению проводили каждый день в течение 10 суток культивирования. Через 7 суток культивирования было обнаружено небольшое (менее 1%) количество клеток с гетерогенной морфологией, способных к прикреплению и распластыванию на твердом субстрате, покрытом фибронектином (Рис. 18 Г). В этих условиях количество клеток в культуре составляло $2,2 \pm 0,2 \times 10^5$ клеток в лунке ($2,2 \pm 0,2 \times 10^6$ кл/мл), количество погибших клеток не превышало $4,5 \pm 0,5\%$, количество лактата, глюкозы и рН составляло $5,5 \pm 0,4$ мМ, $7,4 \pm 0,8$ мМ и $7,1 \pm 0,3$, соответственно. Интересно то, что появления клеток, способных к прикреплению и распластыванию на покрытом фибронектином твердом субстрате, не происходило в случае рекомендованного субкультивирования клеток ТНР-1 (концентрация клеток не более $9 \pm 1 \times 10^5$ кл/мл) (<https://www.atcc.org/products/tib-202>). Далее прикрепившиеся клоны изолировали путем удаления суспензии клеток не способных к адгезии, и продолжали их культивирование в свежей питательной среде. Процедуру получения клонов клеток ТНР-1, способных к прикреплению и распластыванию на твердом субстрате, проводили не менее чем в 10 независимых повторях ($n \geq 10$). В результате были получены клоны ТНР-1ad (адгезионные), способные к прикреплению и распластыванию не только на покрытом фибронектином твердом субстрате, но и обладающие адгезией и распластыванием на поверхности культурального пластика без дополнительного покрытия компонентами ВКМ.

Таким образом, в условиях долговременной трехмерной суспензионной культуре клеток ОМЛ высокой плотности, имитирующей условия провоспалительного микроокружения, возможно появление новых клонов, способных к прикреплению и распластыванию на твердом субстрате.

3.2 Характеристика клеток ОМЛ, способных к адгезии и распластыванию на ВКМ, полученных в условиях долговременной трехмерной суспензионной культуры высокой плотности

3.2.1 Молекулярно-генетическая идентификации клеток ТНР-1ad

Для идентификации принадлежности и для исключения возможности кросс-контаминации клетками другого происхождения был выполнен мультиплексный анализ

STR-локусов хромосомной ДНК клонов ТНР-1ad. Анализ выявленных генотипов проводили по базе данных Американской коллекции типовых клеточных культур (ATCC) (<https://www.atcc.org>). Было установлено, что генетический профиль клонов ТНР-1ad на 93% совпадает с профилем родительских клеток ОМЛ ТНР-1 (TIB-202, ATCC) и по общепринятым критериям является родственным по отношению к ним (Capes-Davis et al., 2013). Клетки ТНР-1ad отличаются от родительских клеток ТНР-1 (TIB-202, ATCC) по трем микросателлитным локусам: диаллельному локусу AMEL, локусу D1S1656 и D13S317. В таблице 2 представлены данные STR-анализа клеток ТНР-1ad.

Таблица 2. STR профиль клеток ТНР-1ad в сравнении с референсным профилем клеток ТНР-1 (TIB-202, ATCC).

Локус	ТНР-1ad	TIB-202, ATCC
AMEL	X,X	X,Y
D3S1358	15,17	15,17
TH01	8,9,3	8,9,3
D12S391	19,19	19,19
D1S1656	16,16	16,17
D10S1248	14,14	14,14
D22S1045	11,15	11,15
D2S441	10,11	10,11
D7S820	10,10	10,10
D13S317	13,14	13,13
FGA	24,25	24,25
TPOX	8,11	8,11
D18S51	13,14	13,14
D16S539	11,12	11,12
D8S1179	10,14	10,14
CSF1PO	11,13	11,13
D5S818	11,12	11,12
vWA	16,16	16,16
D21S11	30,31.2	30,31.2
SE33	20,30.2	20,30.2

Таким образом, клетки ТНР-1ad являются родственными клеткам ТНР-1 и не имеют признаков кросс-контаминации другими клеточными линиями.

3.2.2 Морфологическая характеристика клеток ТНР-1ad

Клетки ТНР-1ad имеют адгезионный фенотип в отличие от родительских моноцитоподобных клеток ТНР-1, не обладающих способностью к прикреплению и распластыванию на твердом субстрате. Известно, что прикрепление и распластывание моноцитарных клеток на субстрате является ключевым компонентом и маркером их созревания/дифференцировки в макрофагальном направлении (Bhattacharya et al., 2018; Boyette et al., 2017; Netea et al., 2008). Поэтому дальнейшую характеристику клеток ТНР-1ad проводили в сравнении как с родительскими недифференцированными клетками ТНР-1, так и в сравнении с родительскими клетками ТНР-1, обработанными форболовым эфиром (РМА), известным индуктором макрофагальной дифференцировки (далее клетки ТНР-1РМА), а также с нативными макрофагами, дифференцированными из моноцитов периферической крови человека (Liu et al., 2023; Lund et al., 2016).

Клетки ТНР-1ad обладали гетерогенной морфологией, включая клетки сферической и веретенообразной формы с выраженными псевдоподиями, в отличие от родительских клеток ТНР-1 с исключительно сферической формой, и от клеток ТНР-1РМА, где подавляющая часть клеток, более 95 %, обладали исключительно веретенообразной формой (Рис. 5А, Б). Интересно, что для макрофагов моноцитарного происхождения, как и в случае с клетками ТНР-1ad, было показано наличие двух морфологических форм - сферической и веретенообразной (Рис. 5А, Б).

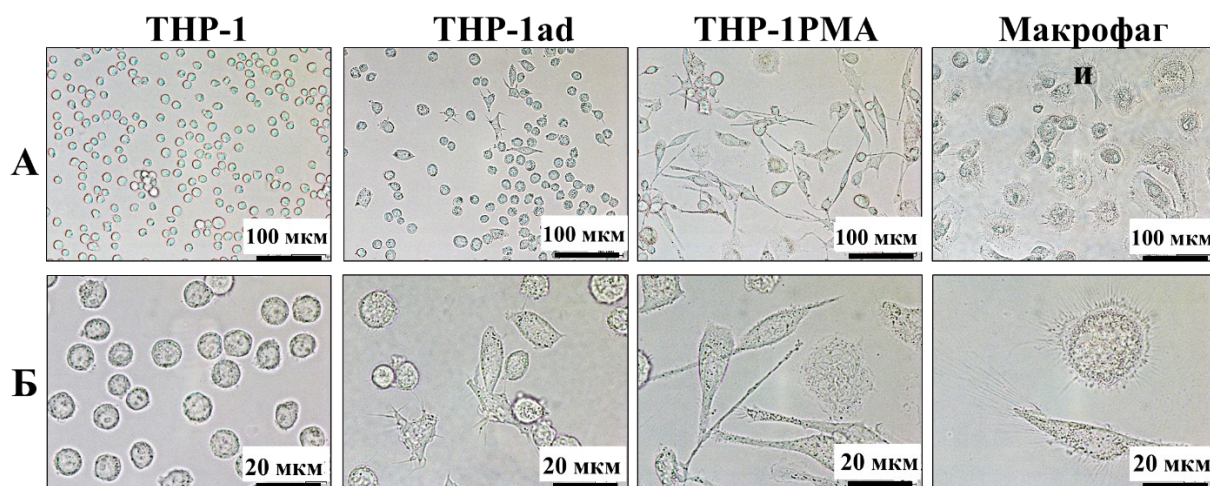


Рисунок 5. Морфология клеток ТНР-1, ТНР-1ad, ТНР-1РМА и макрофагов. Микроскопия в проходящем свете. Объектив x20 (А); Объектив x63 (Б).

При анализе клеток, окрашенных фаллоидином было показано, что структура актинового цитоскелета в клетках ТНР-1ad более близка к клеткам ТНР-1РМА, чем к родительским клеткам ТНР-1. Так в клетках ТНР-1 актиновый цитоскелет не

структурирован и расположен по периферии клетки, в случае клеток ТНР-1ad и ТНР-1РМА актиновый цитоскелет распределен по всей цитоплазме, но неоднородно, агрегаты актина визуализировались по всему оптическому срезу клеток. В свою очередь, в нативных макрофагах четко определялись структурированные и ориентированные параллельно друг другу актиновые филаменты (Рис. 6).

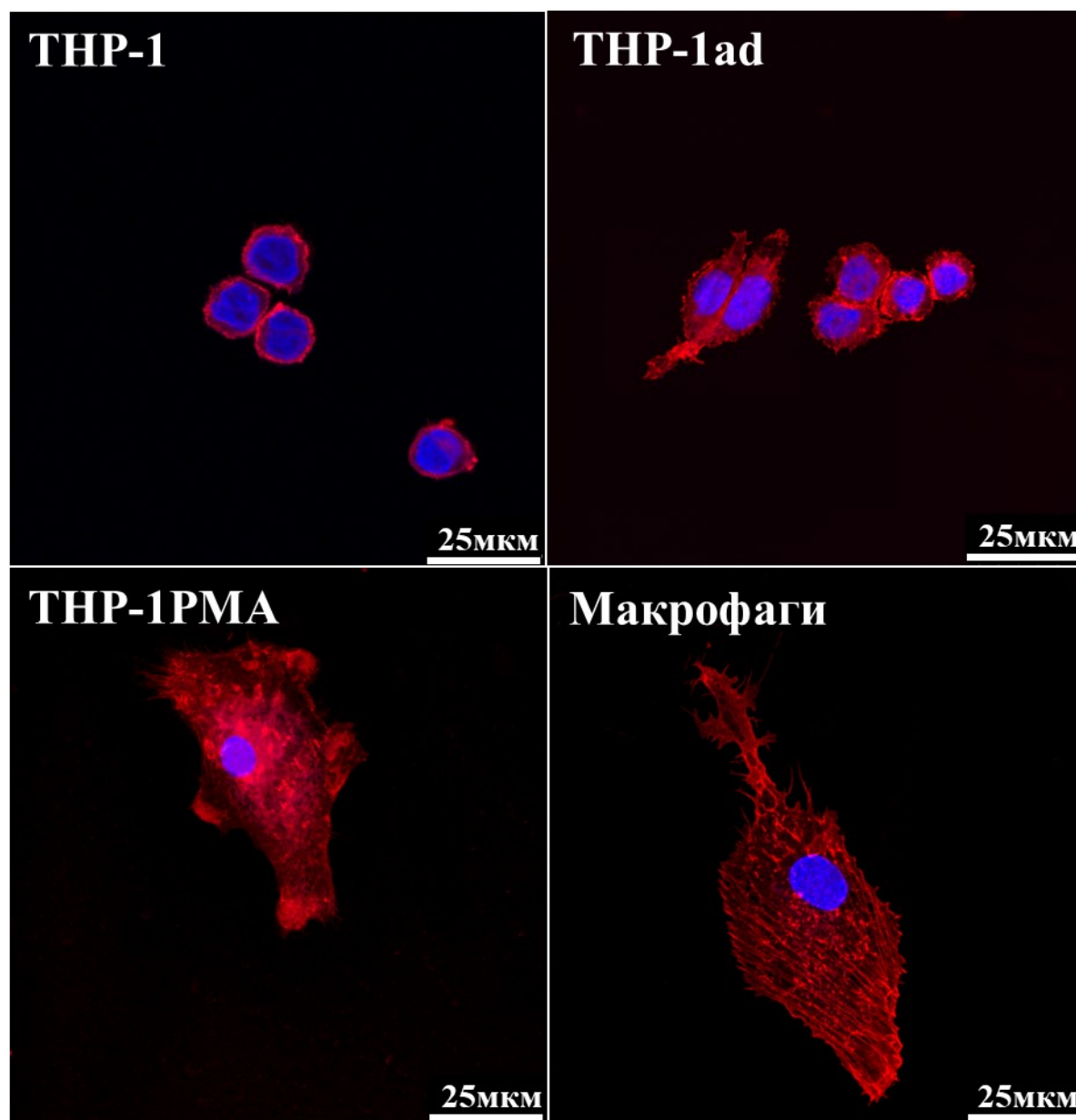


Рисунок 6. Актиновый цитоскелет клеток ТНР-1, ТНР-1ad, ТНР-1РМА и нативных макрофагов человека. Конфокальная микроскопия. Окраска Hoechst 33342 (ядерная ДНК – синий) и Phalloidin Atto 633 (актин – красный). Объектив х63.

Полученные результаты указывают на реорганизацию актинового цитоскелета и образование подосомоподобных структур при формировании фокальной адгезии у клеток ТНР-1ad, полностью отсутствующих у родительских недифференцированных клеток ТНР-

1. Организация активного цитоскелета у клеток THP-1ad менее структурирована и схожа с макрофагоподобными клетками THP-1PMA, в сравнении с ярко выраженным цитоскелетом макрофагов, полученных из моноцитов периферической крови.

3.2.3 Исследование адгезии клеток THP-1ad к внеклеточному матриксу

Интегрины, содержащие домен αV , являются широко известными рецепторами для фибронектина, связывающими трипептидный мотив RGD, представленный аргинином, глицином и аспарагином (Pang et al., 2023). Также известно, что αV интегрины принимают непосредственное участие в адгезии клеток к фибронектин-содержащему ВКМ (Bharadwaj et al., 2017). Была проведена оценка участия αV интегринов в адгезии клеток THP-1ad, THP-1PMA и макрофагов.

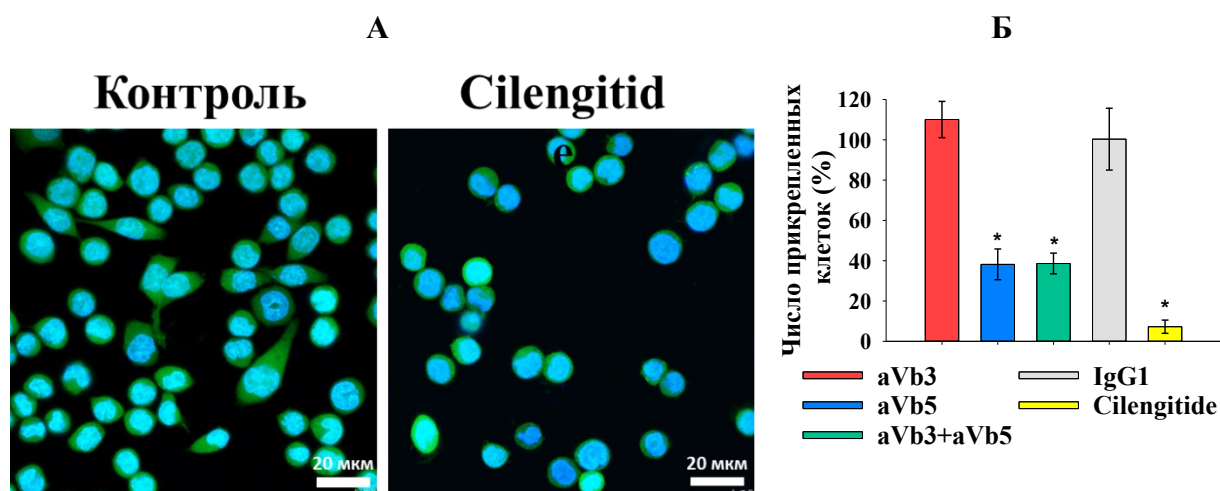


Рисунок 7. Влияние антагонистов αV -интегринов на адгезию клеток THP-1ad. Микрофотографии клеток THP-1ad после инкубации с синтетическим RGD-пептидом Cilengitide и без (контроль). Конфокальная микроскопия. Окраска Hoechst 33342 (ядро – синий) и CFDA-SE (цитоплазма – зеленый) (А). Объектив x20; Количество прикрепленных к твердому субстрату клеток THP-1ad при инкубации с антителами против $\alpha V\beta 3$ и $\alpha V\beta 5$, с контролем изотипа антител IgG1 и синтетическим RGD-пептидом Cilengitide (Б). Данные приведены в виде среднего значения $\pm$ SD, (n $\geq$ 5). * - p<0,05 в сравнении контролем.

Для этого исследуемые клетки инкубировали с 20 μM синтетического RGD-пептида, блокирующего связывание αV – субъединицы интегринов, Cilengitide, в течение 24 часов (Mas-Moruno, Rechenmacher, Kessler, 2010). Было показано, что инкубирование клеток THP-1ad совместно с Cilengitide приводило к подавлению распластывания клеток и их откреплению от твердого субстрата (Рис. 7 А). В то же время, инкубация клеток THP-1PMA и макрофагов совместно с Cilengitide не приводила к откреплению клеток от поверхности субстрата (микрофотографии не представлены), что возможно связано с наличием более

широкого набора интегринов и других молекул адгезии, принимающих участие в процессах адгезии к ВКМ и распластывания у данных клеток (Stinson et al., 2024; Uchino et al., 2016).

Дополнительно, было исследовано участие интегринов $\alpha V\beta 3$ и $\alpha V\beta 5$, известных макрофагальных интегринов в адгезии клеток ТНР-1ad к твердому субстрату (Lin et al., 2021; Kumawat et al., 2018; Liu et al., 2024). Для этого клетки инкубировали в течение 24 часов с моноклональными антителами против $\alpha V\beta 3$ и $\alpha V\beta 5$ интегринов человека. Использование антител против интегрин $\alpha V\beta 3$ не ингибировало адгезию клеток ТНР-1ad к твердому субстрату. В тоже время, использование антител против интегрин $\alpha V\beta 5$, приводило к существенному снижению количества прикрепленных клеток до 37 ± 11 % относительно не обработанных антителами клеток. В свою очередь, использование Cilengitide практически полностью, до 7 ± 5 % относительно необработанных клеток, снижало количество прикрепленных клеток (Рис. 7Б).

Полученные результаты указывают на то, что для клеток ТНР-1ad характерна интегрин αV -зависимая адгезия к твердому субстрату и, в частности, адгезия может быть опосредована участием интегрин $\alpha V\beta 5$.

3.2.4 Изучение пролиферативной активности клеток ТНР-1ad

Принято считать, что дифференцировка клеток в более «зрелые» формы, например, в макрофагальном направлении блокирует способность к пролиферации, однако, в последнее время появилось достаточное количество данных, показывающих способность макрофагов к самообновлению, то есть к поддержанию пролиферации (Filiberti et al., 2022; Gerlach et al., 2021; Pang, Koh, 2023). Согласно нашим результатам, клетки ТНР-1ad не теряют способности к пролиферации (Рис. 8А). Было показано, что время удвоения количества клеток ТНР-1ad составило 23 ± 2 часа, а для родительских клеток ТНР-1 - 24 ± 1 часа. Распределение растущих клеток ТНР-1ad по фазам клеточного цикла не отличалось от родительских клеток ТНР-1 (Рис. 8Б). В тоже время, макрофагоподобные клетки ТНР-1РМА и нативные макрофаги не были способны к пролиферации (Рис. 8А). Дополнительно было показано, что экспрессия ядерного антигена Ki-67, известного маркера пролиферирующих клеток, выявлена у 98 ± 2 % и 99 ± 1 % клеток ТНР-1ad и родительских клеток ТНР-1, соответственно (Andrés-Sánchez, Fisher, Krasinska, 2022; Uxa et al., 2021). У дифференцированных клеток ТНР-1РМА только 29 ± 7 % клеток были положительны по наличию данного антигена, а в случае макрофагов Ki-67-положительные клетки обнаружены не были (Рис. 8В).

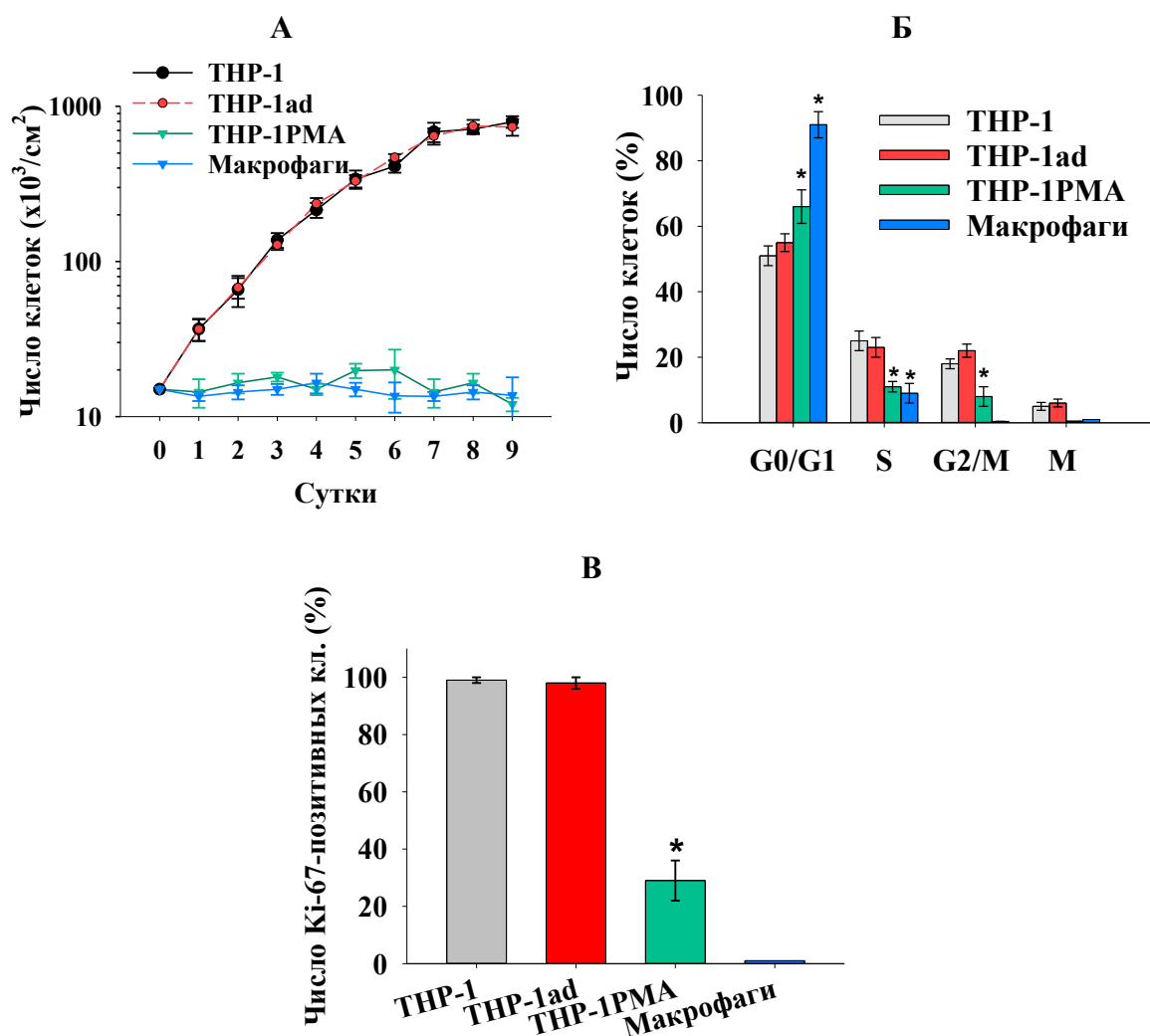


Рисунок 8. Оценка пролиферативной активности клеток THP-1ad. Кривая роста (А), распределение по фазам клеточного цикла (Б) и распределение по экспрессии Ki-67 (В) клеток THP-1ad в сравнении с клетками THP-1, THP-1PMA и макрофагами. Данные приведены в виде среднего значения $\pm$ SD, ($n \geq 5$). * - $p < 0,05$ в сравнении с родительскими клетками THP-1.

Таким образом, клетки THP-1ad сохраняют пролиферативную активность на уровне родительских недифференцированных клеток THP-1.

3.2.5 Иммунофенотипирование клеток THP-1ad

Иммунофенотипирование клеток THP-ad проводили по 12 основным маркерам макрофагальной дифференцировки в сравнении с родительскими клетками THP-1, макрофагоподобными клетками THP-1PMA и нативными макрофагами (Frafjord et al., 2020; Liu et al., 2023; Unuvar Purcu et al., 2022). Результаты иммунофенотипирования представлены в таблице 3. Клетки THP-1ad являются положительными по основным

макрофагальным маркерам CD11b, CD11c, CD14, CD284, которые отсутствуют у родительских клеток ТНР-1. Также у клеток ТНР-1ad по сравнению с родительскими клетками ТНР-1 увеличивается HLA-DR-положительная популяция с $21\pm1\%$ до $60\pm2\%$.

Таблица 3. Основные иммунофенотипические маркеры макрофагальной дифференцировки у клеток ТНР-1ad в сравнении с клетками ТНР-1, клетками ТНР-1РМА и нативными макрофагами, выраженные в процентах положительных клеток, относительно общей популяции.

CD (кластеры дифференцировки)	ТНР-1	ТНР-1ad	ТНР-1 РМА	Макрофаги
Интегрин α L, (CD11a)	$85\pm9\%$	$86\pm1\%$	$91\pm2\%$	$98\pm2\%$
Интегрин α M, (CD11b)	-	$18\pm2\%$	-	$90\pm3\%$
Интегрин α X, (CD11c)	-	$56\pm3\%$	$90\pm1\%$	$66\pm1\%$
Ко-рецептор для LPS (CD14)	-	$19\pm1\%$	$95\pm1\%$	$47\pm2\%$
Siglec-3 (CD33)	$99\pm1\%$	$99\pm1\%$	$99\pm1\%$	$99\pm1\%$
SCARB3 (CD36)	-	-	$20\pm1\%$	$97\pm1\%$
PTPRC (CD45)	$96\pm8\%$	$96\pm1\%$	$99\pm1\%$	$99\pm1\%$
Fc- γ рецептор 1 (CD64)	$95\pm1\%$	$95\pm1\%$	$25\pm3\%$	$55\pm4\%$
Макросиалин (CD68)	$51\pm3\%$	$47\pm5\%$	-	$95\pm4\%$
Рецептор для гаптоглобина (CD163)	-	-	-	-
TLR4 (CD284)	-	$49\pm13\%$	-	$9\pm1\%$
МНС II (HLA-DR)	$21\pm1\%$	$60\pm1\%$	-	$59\pm2\%$

Таким образом, клетки ТНР-1ad обладают иммунофенотипом приближенным к клеткам, дифференцированным в макрофагальном направлении.

3.2.6 Исследование фагоцитарной активности клеток ТНР-1ad

Фагоцитарная активность является одной из ключевых характеристик специализированных фагоцитов, таких как макрофаги (Fu, Harrison, 2021; García-Nicolás et al., 2023). При оценке фагоцитарной активности было обнаружено, что $90\pm6\%$ клеток ТНР-1ad фагоцитируют флуоресцентные частицы pHrodo Green *E. Coli*, что, в свою очередь, не отличается от показателя нативных макрофагов, где $78\pm7\%$ клеток фагоцитируют данные частицы и, достоверно ($p<0,05$) выше показателя родительских клеток ТНР-1 (Рис. 9А). Стоит также отметить, что относительное фагоцитарное число для клеток ТНР-1ad, определяемое по количеству фагоцитированных частиц (по интенсивности флуоресценции), также достоверно ($p<0,05$) выше, чем у родительских клеток ТНР-1 (Рис. 9Б, В).

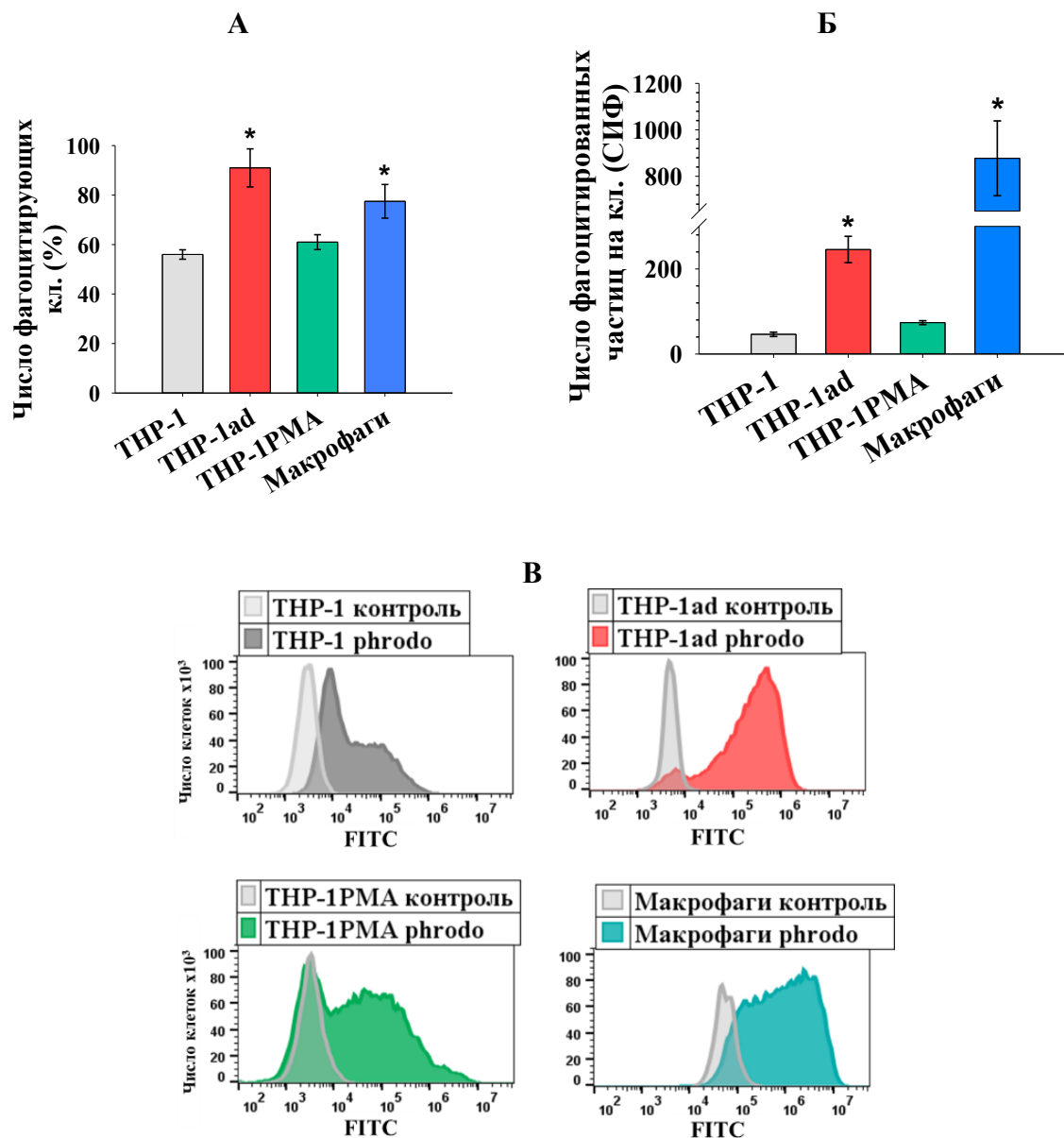


Рисунок 9. Исследование фагоцитарной активности клеток THP-1ad. Фагоцитарный индекс (% фагоцитирующих клеток) (А); Относительное фагоцитарное число (количество фагоцитированных частиц на клетку, выраженное в средней интенсивности флуоресценции (СИФ) в произвольных единицах (Б); Гистограммы интенсивности внутриклеточной флуоресценции частиц pHrodo Green *E. Coli*, отражающие фагоцитарную активность клеток (В). Данные приведены в виде среднего значения $\pm$ SD, ($n \geq 5$). * - $p < 0,05$ в сравнении с родительскими клетками THP-1.

Таким образом, для клеток THP-1ad характерна высокая фагоцитарная активность флуоресцентных частиц, содержащих *E. Coli*, схожая с нативными макрофагами.

3.2.7 Оценка относительного размера и гранулярности цитоплазмы клеток THP-1ad

Увеличение относительных размеров клеток, а также гранулярности цитоплазмы, оцениваемое по прямому (FSC) и боковому светорассеянию (SSC), соответственно, характерно для дифференцировки клеток в макрофагальном направлении (Daigneault et al., 2010; Forrester et al., 2018). Было проведено сравнение показателей FSC и SSC клеток THP-1ad с показателями родительской линии THP-1, а также с дифференцированными клетками THP-1PMA и нативными макрофагами.

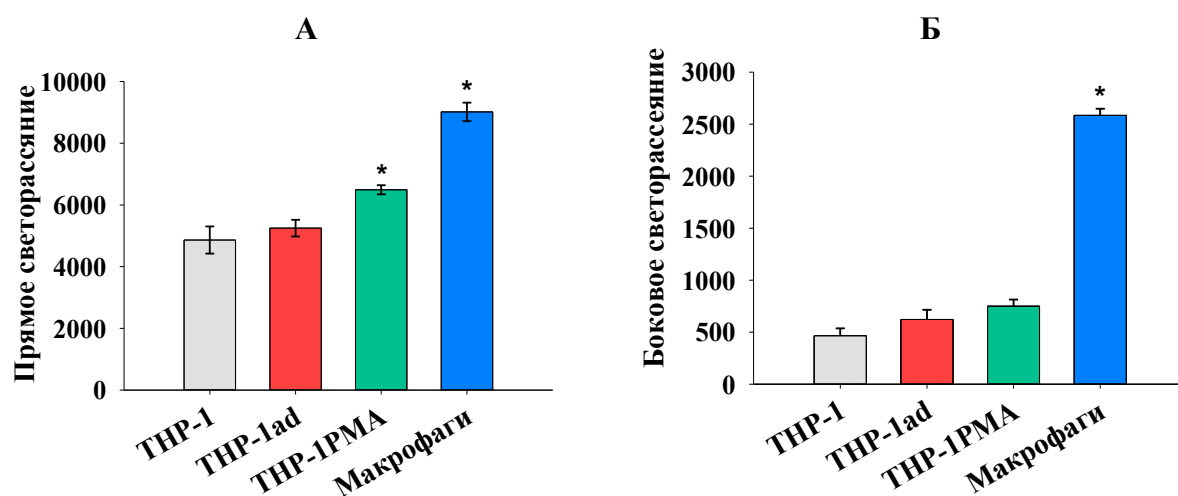


Рисунок 10. Оценка относительного размера и гранулярности клеток THP-1ad. Интенсивность прямого светорассеяния в произвольных единицах (пр. ед.) (А); Интенсивность бокового светорассеяния в пр. ед. (Б). Данные приведены в виде среднего значения $\pm$ SD, ($n \geq 5$). * - $p < 0,05$ в сравнении с родительскими клетками THP-1.

Мы обнаружили, что клетки THP-1ad не отличались по размеру, оцениваемому по параметру FSC, и гранулярности, оцениваемой по параметру SSC, от родительских клеток THP-1. В свою очередь, у нативных макрофагов наблюдались наибольшие параметры FSC и SSC среди исследованных клеток (Рис. 10 А, Б).

Таким образом, для клеток THP-1ad характерны показатели размера и гранулярности цитоплазмы сходные с родительским недифференцированными клетками THP-1.

3.2.8 Анализ содержания митохондрий и лизосом в клетках THP-1ad

Известно, что увеличение содержания таких клеточных органелл как лизосомы и митохондрии наблюдается при дифференцировке в макрофагальном направлении (Daigneault et al., 2010). Была проведена оценка относительного содержания митохондрий и лизосом в клетках THP-1ad с помощью окраски клеток флуоресцентными зондами MitoTracker Green и LysoTracker Green (Ahmad, Leake, 2019; Monteiro et al., 2020). Клетки

ТНР-1ad содержали достоверно большее ($p < 0,05$) количество лизосом, чем родительские клетки ТНР-1. Содержание митохондрий у клеток ТНР-1ad не отличалось от родительских клеток ТНР-1. В свою очередь, нативные макрофаги содержали наибольшее количество митохондрий и лизосом (Рис. 11 А, Б).

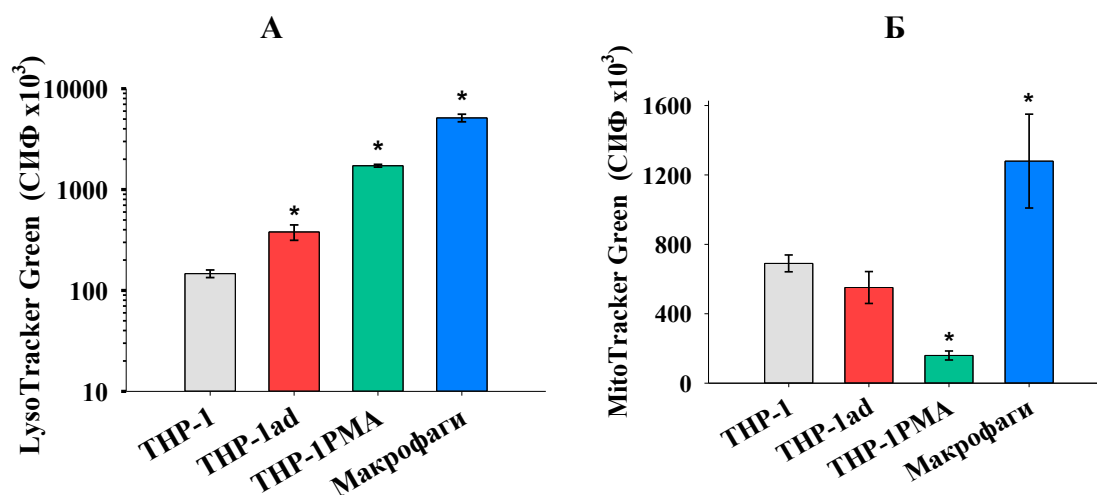


Рисунок 11. Оценка содержания лизосом (А) и митохондрий (Б) у клеток ТНР-1ad в сравнении с родительскими недифференцированными клетками ТНР-1, макрофагоподобными клетками ТНР-1PMA и нативными макрофагами. СИФ – средняя интенсивность флуоресценции в произвольных единицах. Данные приведены в виде среднего значения $\pm$ SD, ($n \geq 5$). * - $p < 0,05$ в сравнении с клетками ТНР-1.

Таким образом, для клеток ТНР-1ad показано повышенное содержание лизосом, но не митохондрий, что характерно для макрофагальных клеток.

3.2.9 Исследование продукции АФК и оксида азота клетками ТНР-1ad

Увеличение продукции активных форм кислорода (АФК) и оксида азота (NO), необходимо для выполнения специфических макрофагальных функций, например, уничтожения бактерий (Canton et al., 2021; Fang, Vázquez-Torres, 2019). Для оценки конститутивной и ЛПС-индуцированной продукции АФК и NO клетки нагружали флуоресцентными зондами DCFH-DA и DAF-FM DA, соответственно (Zollbrecht et al., 2016).

Для клеток ТНР-1ad было показано, достоверное ($p < 0,05$) ЛПС-зависимое повышение внутриклеточного содержания АФК, также, как и в случае макрофагоподобных клеток ТНР-1PMA и нативных макрофагов (Рис. 12А). При исследовании продукции NO, было показано, что у клеток ТНР-1ad, также, как и у нативных макрофагов происходило ЛПС-индуцированное повышение содержания внутриклеточного NO. Интересно, что в

случае родительских недифференцированных клеток ЛПС-зависимая индукция приводила к снижению внутриклеточного содержания NO (Рис. 12Б).

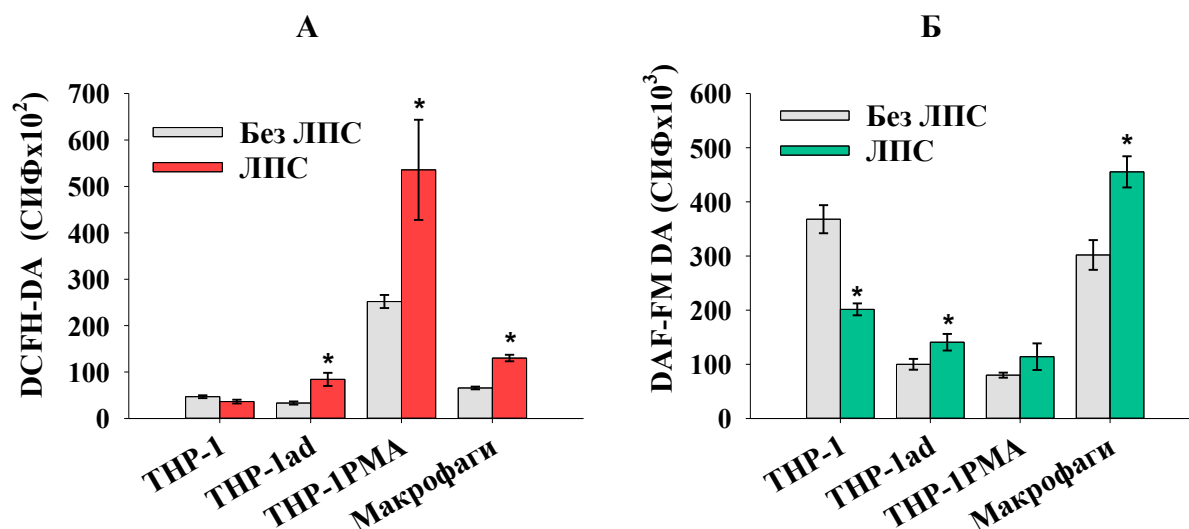


Рисунок 12. Оценка конститутивной (без ЛПС) и ЛПС-индуцированной (ЛПС) продукции АФК (А) и оксида азота (Б) у клеток THP-1ad в сравнении с родительскими клетками THP-1, макрофагоподобными клетками THP-1PMA и нативными макрофагами. СИФ- средняя флуоресценция клеток в пр. ед. Данные приведены в виде среднего значения $\pm$ SD, (n $\geq$ 5). * - p<0,05 в сравнении с конститутивной продукцией.

Таким образом, для клеток THP-1ad показано ЛПС-зависимое повышение продукции АФК и оксида азота, что характерно для нативных макрофагов.

3.2.10 Анализ продукции цитокинов клетками THP-1ad

Специфический цитокиновый и хемокиновый профиль макрофагов является не только одной из ключевых их характеристик, но и необходим как для регуляции поляризации макрофагов, так и для формирования физиологического иммунного ответа (Murray, Stow, 2014; Niles et al., 2021). Далее в работе был проведен анализ цитокинового и хемокинового профиля клеток THP-1ad в сравнении с родительскими клетками THP-1, макрофагоподобными клетками THP-1PMA и нативными макрофагами (Табл. 4).

Таблица 4. Анализ продукции цитокинов родительскими клетками ТНР-1, клетками ТНР-1ad, клетками ТНР-1РМА и нативными макрофагами, пг/мл. Данные приведены в виде среднего значения $\pm$ SD, (n $\geq$ 5).

Цитокин	ТНР-1	ТНР-1ad	ТНР-1РМА	Макрофаги
ИЛ-1 β	0,22 $\pm$ 0,07	0,33 $\pm$ 0,05	71,10 $\pm$ 4,62	0,52 $\pm$ 0,08
ИЛ-1ra	37,05 $\pm$ 5,91	48,59 $\pm$ 3,36	19605,53 $\pm$ 1159,64	1183,00 $\pm$ 152,85
ИЛ-2	0,60 $\pm$ 0,13	1,49$\pm$0,29	139,74 $\pm$ 11,18	2,17 $\pm$ 0,13
ИЛ-4	0	0,05 $\pm$ 0,01	1,78 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,02
ИЛ-5	1,81 $\pm$ 0,41	4,48$\pm$0,37	51,79 $\pm$ 1,77	4,55 $\pm$ 0,64
ИЛ-6	0,34 $\pm$ 0,01	0,63 $\pm$ 0,07	424,40 $\pm$ 48,25	0,70 $\pm$ 0,06
ИЛ-7	1,62 $\pm$ 0,27	1,49 $\pm$ 0,31	6,78 $\pm$ 1,98	1,22 $\pm$ 0,01
ИЛ-8	1,61 $\pm$ 0,28	9,36$\pm$0,61	23,59 $\pm$ 1,96	2,67 $\pm$ 0,37
ИЛ-9	2,05 $\pm$ 0,30	41,99$\pm$7,95	33284,00 $\pm$ 0,01	1233,93 $\pm$ 190,70
ИЛ-10	2,01 $\pm$ 0,37	2,17 $\pm$ 0,18	7,29 $\pm$ 0,91	2,13 $\pm$ 0,47
ИЛ-12p70	0,26 $\pm$ 0,12	0,31 $\pm$ 0,10	3,18 $\pm$ 0,29	0,41 $\pm$ 0,10
ИЛ-13	0,37 $\pm$ 0,07	0,49 $\pm$ 0,05	1,28 $\pm$ 0,08	0,44 $\pm$ 0,05
ИЛ-15	16,71 $\pm$ 4,55	45,23$\pm$2,88	127,97 $\pm$ 6,71	24,86 $\pm$ 1,59
ИЛ-17A	0,91 $\pm$ 0,20	1,68 $\pm$ 0,11	38,23 $\pm$ 2,12	2,79 $\pm$ 0,28
Эотаксин	0	0	3,14 $\pm$ 0,22	0,08 $\pm$ 0,02
ФРФ	0	4,97$\pm$0,7	69,04 $\pm$ 4,02	10,12 $\pm$ 0,52
Г-КСФ	0	16,65$\pm$3,34	280,11 $\pm$ 16,84	22,08 $\pm$ 3,77
ГМ-КСФ	0	0,34$\pm$0,01	6,54 $\pm$ 0,22	0,44 $\pm$ 0,09
IP-10	0	65,22$\pm$8,46	2077,67 $\pm$ 179,09	97,09 $\pm$ 4,18
MIP-1 α	0	1,98$\pm$0,36	125,06 $\pm$ 14,49	147,72 $\pm$ 21,06
ИНФ- γ	0,56 $\pm$ 0,10	1,47 $\pm$ 0,44	48,31 $\pm$ 5,46	25,59 $\pm$ 1,48
MCP-1	0,50 $\pm$ 0,15	44,68$\pm$6,29	27326,00 $\pm$ 121,62	92,18 $\pm$ 5,01
MIP-1 β	2,14 $\pm$ 0,25	39,54$\pm$3,03	6935,00 $\pm$ 0,01	18,91 $\pm$ 2,38
ТФР-BB	5,28 $\pm$ 1,36	7,17 $\pm$ 1,20	76,08 $\pm$ 3,26	30,84 $\pm$ 5,05
Rantes	40,59 $\pm$ 5,26	1233,50$\pm$183,41	2805,50 $\pm$ 299,49	54,56 $\pm$ 7,59
ФНО- α	2,57 $\pm$ 0,01	27,78$\pm$1,61	8050,75 $\pm$ 784,78	27,01 $\pm$ 2,61
VEGF	27,33 $\pm$ 4,97	70,03$\pm$4,89	532,75 $\pm$ 41,00	51,97 $\pm$ 9,45

Было выявлено, что в отличие от недифференцированных родительских клеток ТНР-1 для клеток ТНР-1ad была свойственна *de novo* продукция ИЛ-4, ФРФ, Г-КСФ, ГМ-КСФ, IP-10 и MIP-1 α , которая, в свою очередь, характерна для макрофагоподобных клеток ТНР-1РМА и нативных макрофагов. Интересно, что продукция ИЛ-4, ФРФ, Г-КСФ, ГМ-КСФ и IP-10 у клеток ТНР-1ad находилась на уровне сходном с нативными макрофагами (Рис. 13).

Количественная оценка продукции цитокинов и хемокинов показала, что у клеток ТНР-1ad конститутивная продукция восьми цитокинов и хемокинов, таких как ИЛ-2, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-17a, MCP-1, MIP-1 β , ФНО- α и VEGF достоверно (p<0,05) отличалась от родительских клеток ТНР-1 и была близка к уровню нативных макрофагов (Рис. 14). Интересно отметить, что у макрофагоподобных клеток ТНР-1РМА была самая высокая продукция всех исследуемых цитокинов и хемокинов не только относительно

недифференцированных родительских клеток THP-1 и THP-1ad, но и в сравнении с нативными макрофагами.

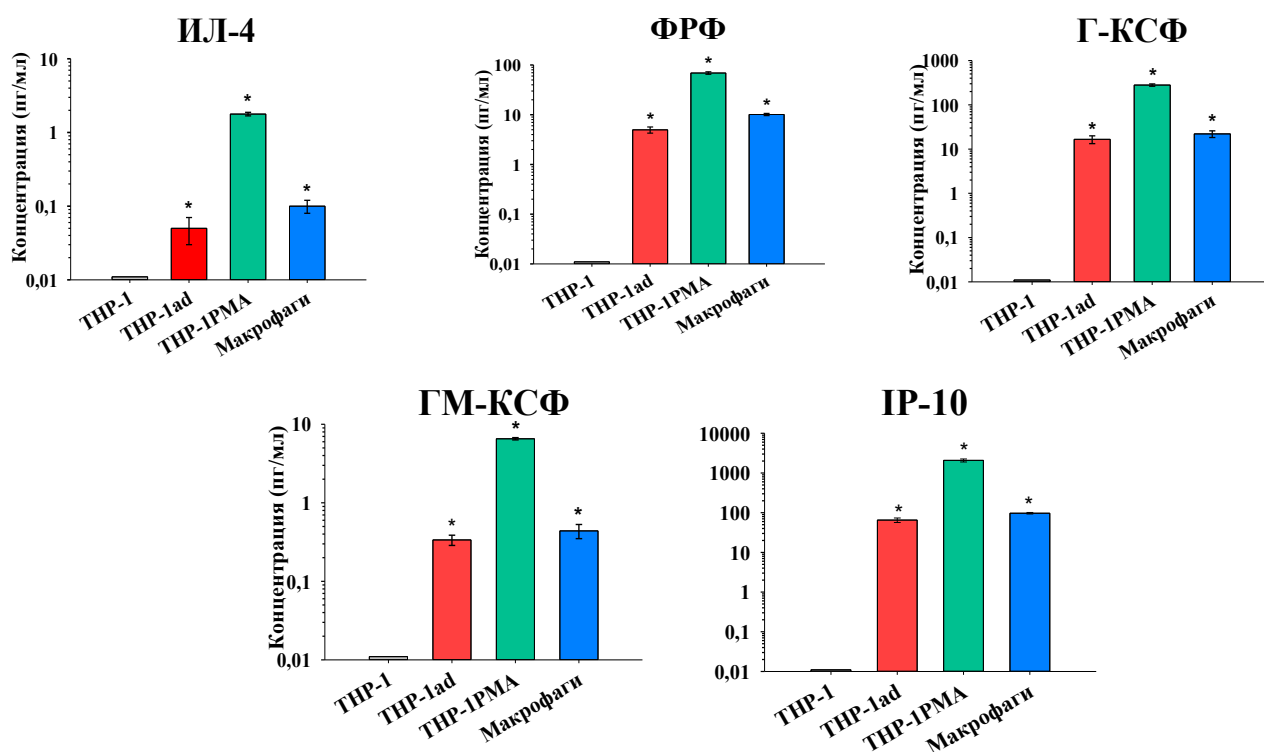


Рисунок 13. *De novo* конститутивно продуцируемые цитокины и хемокины клетками THP-1ad, относительно родительских клеток THP-1, дифференцированных THP-1PMA и нативных макрофагов. Данные приведены в виде среднего значения $\pm$ SD, ($n \geq 5$). * - $p < 0,05$ в сравнении с родительскими клетками THP-1.

Таким образом, для клеток THP-1ad показана *de novo* продукция ИЛ-4, ФРФ, Г-КСФ, ГМ-КСФ, IP-10 и MIP-1 α , а также повышенная по сравнению с недифференцированными родительскими клетками THP-1 продукция ИЛ-2, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-17a, MCP-1, MIP-1 β , FNO- α и VEGF, что, в свою очередь, характерно для зрелых макрофагов.

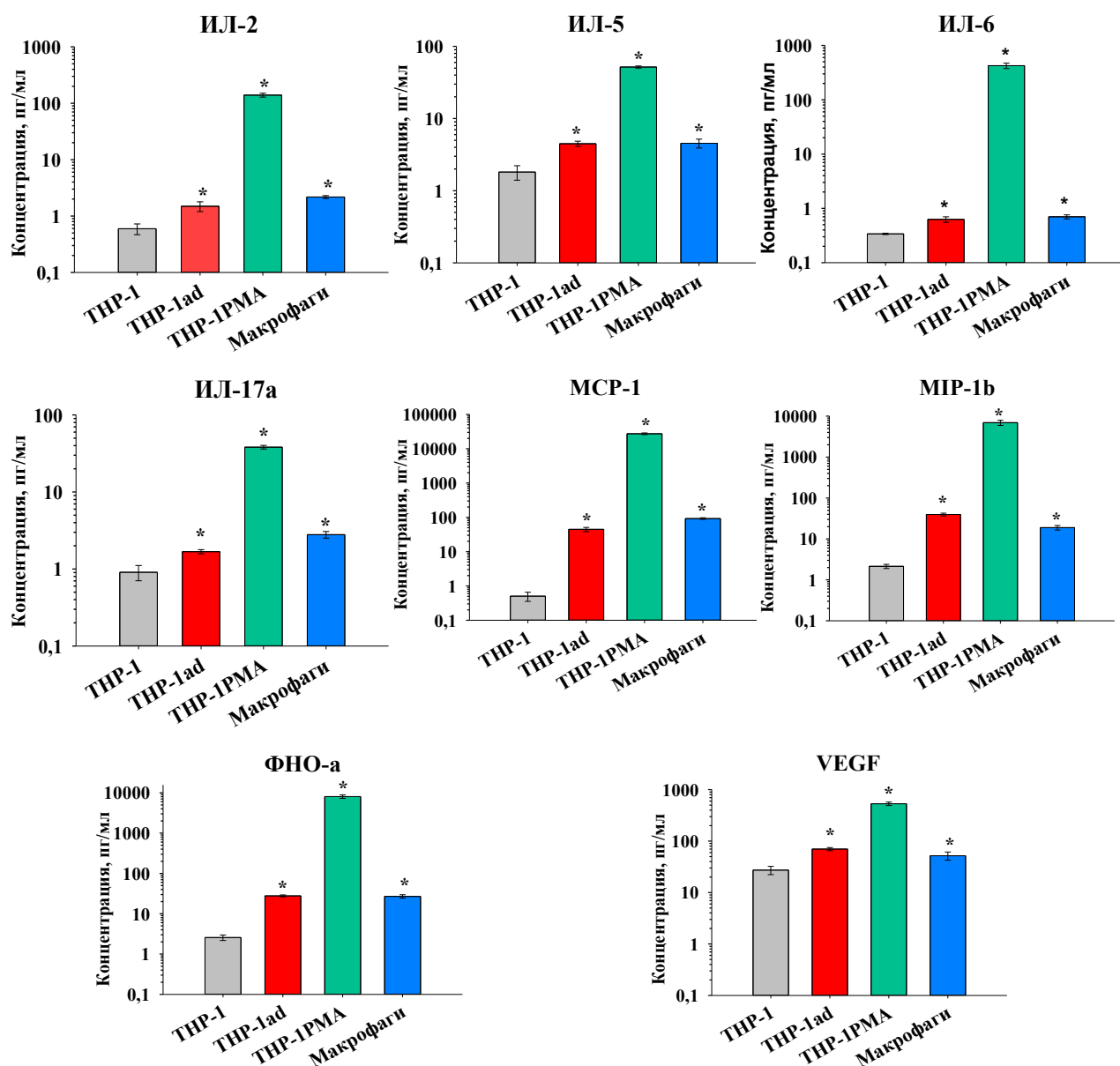


Рисунок 14. Сравнительный анализ конститутивной продукции цитокинов и хемокинов родительскими клетками THP-1, клетками THP-1ad, макрофагоподобными клетками THP-1PMA и нативными макрофагами. Данные приведены в виде среднего значения $\pm$ SD, ($n \geq 5$). * - $p < 0,05$ по сравнению с родительскими клетками THP-1.

Представленные выше результаты показывают, что в *in vitro* модели, имитирующей условия микроокружения лейкозных клеток при «стерильном» хроническом воспалении, долговременной трехмерной культуре моноцитоподобных клеток ОМЛ THP-1 высокой плотности, обнаружено появление клонов THP-1ad, морфологически существенно отличающихся от родительских клеток, и способных к прикреплению на фибронектин-содержащем твердом субстрате. Способность клеток THP-1ad к адгезии и распластыванию на твердом субстрате, наличие макрофаг-специфичного иммунофенотипа, выраженной фагоцитарной активности, увеличенного содержания лизосом, особенностей ЛПС-

индуцированной продукции АФК и оксида азота, а также продукции специфических макрофагальных цитокинов и хемокинов указывает на приобретение ими более дифференцированного, по сравнению недифференцированными родительскими клетками ОМЛ THP-1, макрофагоподобного фенотипа. В тоже время, отличительной чертой данных клеток является их высокая пролиферативная активность в отличие от непродлиферирующих макрофагоподобных клеток THP-1PMA и нативных макрофагов, характерная для родительских недифференцированных клеток. То есть на фоне приобретения дифференцированного макрофагального фенотипа клетки THP-1ad сохранили основное свойство недифференцированных клеток ОМЛ - способность к пролиферации. Таким образом, клетки THP-1ad, образовавшиеся в условиях воспалительного микроокружения, представляют собой пролиферирующие макрофагоподобные клетки ОМЛ.

3.3 Исследование устойчивости макрофагоподобных клеток ОМЛ THP-1ad к TRAIL-индуцированной гибели

Хорошо известно, что направленная дифференцировка как здоровых гемопоэтических клеток, так и клеток ОМЛ может инициировать их устойчивость к цитотоксическому действию основного молекулярного эффектора противоопухолевого иммунитета - цитокину TRAIL (Mirandola et al., 2006; Secchiero et al., 2002; Shiiki et al., 2000). Поэтому далее было проведено исследование чувствительности пролиферирующих макрофагоподобных клеток THP-1ad к TRAIL-индуцированной гибели. Анализ цитотоксического действия TRAIL на клетки THP-1ad проводили в сравнении с родительскими недифференцированными клетками THP-1, с непродлиферирующими макрофагоподобными клетками THP-1PMA, а также с нативными макрофагами.

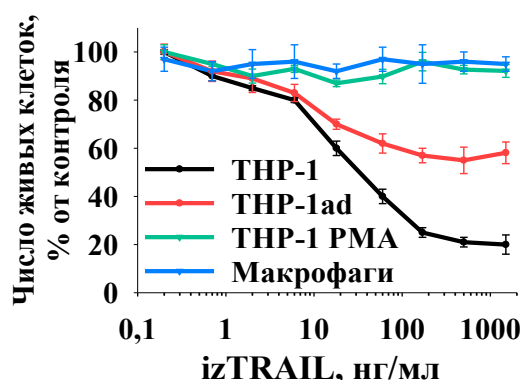


Рисунок 15. Цитотоксическое действие izTRAIL на клетки THP-1ad, THP-1, THP-1PMA и макрофаги. По оси ординат – число живых клеток в процентах относительно контроля (необработанных клеток) через 24 часа после добавления izTRAIL. Данные приведены в виде среднего значения $\pm$ SD, ($n \geq 5$).

Было установлено, что применение *iz*TRAIL даже при высоких концентрациях (до 1,5 мкг/мл) не вызывало токсического эффекта на непролиферирующие макрофагоподобные клетки THP-1PMA и нативные макрофаги, что указывает на их TRAIL-резистентность. Для пролиферирующих макрофагоподобных клеток THP-1ad было показано наличие двух популяций – чувствительных и резистентных к TRAIL-индуцированной гибели. Было показано, что резистентные клетки составляли $60\pm 5\%$, а чувствительная популяция $40\pm 4\%$. В случае недифференцированных родительских клеток THP-1 резистентная популяция была значительно меньше и составляла $21\pm 4\%$ (Рис. 15).

Таким образом, полученные результаты показывают на то, что макрофагоподобные клетки ОМЛ THP-1ad, образовавшиеся в условиях воспалительного микроокружения, более резистентными к TRAIL-индуцированной гибели, чем недифференцированные родительские клетки ОМЛ THP-1, что, в свою очередь, выражается в существенном увеличении количества абсолютно резистентных к действию цитокина TRAIL клеток и характерно для дифференцированных макрофагальных клеток.

3.4 Изучение механизмов устойчивости макрофагоподобных клеток ОМЛ THP-1ad к TRAIL-индуцированной гибели

3.4.1 Идентификация наиболее активированных сигнальных путей в макрофагоподобных клетках THP-1ad

Для определения основных сигнальных путей и потенциальных механизмов TRAIL резистентности у макрофагоподобных клеток THP-1ad было проведено полногеномное секвенирование РНК с последующим биоинформатическим анализом дифференциальной экспрессии генов данных клеток в сравнении с родительскими недифференцированными клетками THP-1.

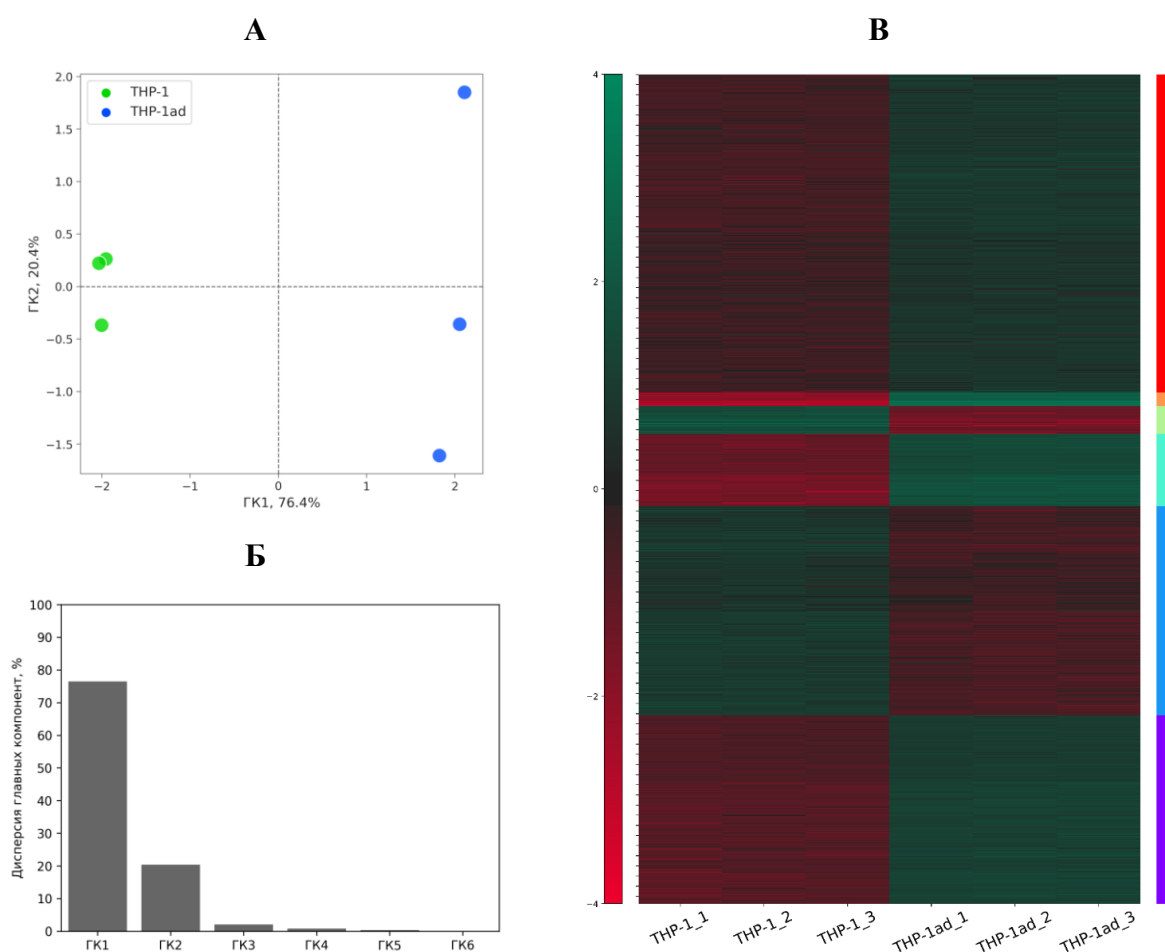


Рисунок 16. Результаты оценки различий данных по экспрессии генов у макрофагоподобных клеток THP-1ad и недифференцированных родительских клеток THP-1. Метод главных компонент на основе данных экспрессии генов, показывающий различия в экспрессии в двух экспериментальных группах (**А**); Распределение дисперсии между главными компонентами (**Б**); Кластеризация данных с достоверными изменениями экспрессии (**В**).

Метод главных компонент показал дисперсию данных секвенирования РНК по первой главной компоненте (ГК1), соответствующую $\approx 76\%$, по второй главной компоненте (ГК2) дисперсия данных составила около 20%, совокупный охват данных ГК1 и ГК2 составляет около 96% (Рис. 16А, Б). То есть в недифференцированных родительских клетках THP-1 и в макрофагоподобных клетках THP-1ad экспрессия РНК различается, на что указывает значительное разделение групп по оси ГК1.

Метод кластеризации данных также показал разделение кластеров по экспериментальным группам. Видны четкие различия в экспрессии генов внутри выделенных алгоритмом подгрупп между двумя экспериментальными условиями. Также наблюдается сходство данных экспрессии внутри каждого экспериментального условия (Рис. 16В).

Таким образом, данные анализа методом главных компонент и кластеризации данных показывают различия между двумя экспериментальными условиями, а также сходство между образцами внутри группы, что говорит о возможности проведения дальнейшего анализа полученных результатов.

Для изучения активности внутриклеточных сигнальных путей был проведен анализ обогащения по функциональной принадлежности (GSEA) базы данных MSigDB (Liberzon et al., 2011) на всем наборе данных секвенирования транскриптомов. Данный анализ позволяет оценить повышение или подавление активности исследуемого сигнального пути, а также всех изучаемых генов-мишеней за счет учета даже незначительных изменений транскрипционной активности (Subramanian et al., 2005).

GSEA, проведенный с использованием коллекции Hallmark, показал, что наибольший положительный нормализованный показатель обогащения (НПО) в макрофагоподобных клетках THP-1ad имели наборы генов сигнальных путей INTERFERON ALPHA RESPONSE (НПО 2.13), IL6 JAK STAT3 SIGNALING (НПО 2.06), INFLAMMATORY RESPONSE (НПО 2.01), INTERFERON GAMMA RESPONSE (НПО 1.98) и TNFA SIGNALING VIA NF-KB (НПО 1.96), что указывает на активацию данных сигнальных путей (рис. 17А, Б). Известно, что повышение активности идентифицированных сигнальных путей связано с провоспалительной активацией клеток (Kopitar-Jerala, 2017; Hirano, 2021; Zelová, Hošek, 2013). Также в клетках THP-1ad наибольшее отрицательное значение НПО было выявлено для процессов MYC TARGETS V1 (НПО -2.86), MYC TARGETS V2 (НПО -2.83) и OXIDATIVE PHOSPHORYLATION (НПО -2.03), что свидетельствует о снижении их активности (Рис. 17А, В). Хорошо известно, что подавление данных процессов также характерно для провоспалительной

активации и повышения устойчивости клеток к цитотоксическому действию TRAIL (Bae et al., 2021; Lee et al., 2019; Liu et al., 2016).

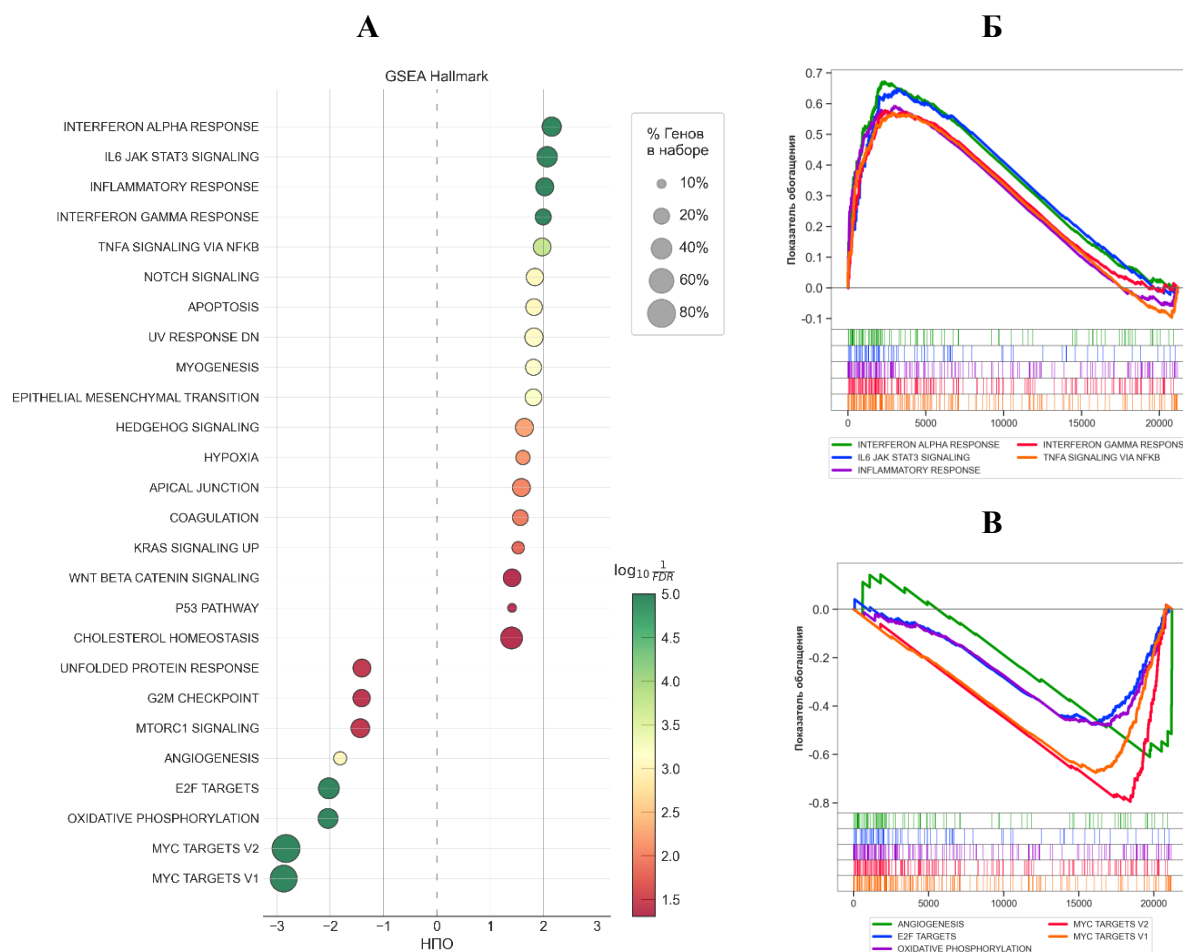


Рисунок 17. GSEA наборов генов коллекции Hallmark (общие признаки) у макрофагоподобных клонов THP-1ad относительно недифференцированных родительских клеток THP-1. Суммарный дот-плот GSEA всех достоверно изменённых наборов генов из коллекции Hallmark (А). НПО – нормализованный показатель обогащения. Результаты GSEA наборов генов из коллекции Hallmark с наиболее положительным (Б) и отрицательным (В) показателем обогащения. $FDR \leq 0,05$

Затем для выявления наиболее вероятных транскрипционных факторов (ТФ), контролирующих экспрессию генов из наборов с наибольшим положительным НПО, то есть непосредственно принимающих участие в активации выше представленных сигнальных путей у макрофагоподобных клеток THP-1ad, был проведен GSEA с использованием коллекции СЗ, наборов генов, содержащих последовательности для связывания с ТФ семейств IRF, STAT, AP-1 и NF- κ B.

Было выявлено, что из всех наборов коллекции СЗ (субколлекции TFT:TFT LEGACY), содержащих гены с последовательностями для связывания ТФ семейства IRF, были достоверно ($FDR \leq 0,05$) обогащены и имели положительные показатели обогащения

(ПО) наборы генов IRF_Q6 (ПО 0.46), STTTCRNTTT_IRF_Q6 (ПО 0.46), IRF1_Q6 (ПО 0.45) и IRF7_01 (ПО 0.45), что указывает на транскрипционную активность факторов IRF1 и IRF7 (Рис. 18А). При исследовании наборов, содержащих гены с последовательностями для связывания ТФ семейства STAT, было обнаружено, что наборы генов STAT3_02 (ПО 0.48) и STAT6_02 (ПО 0.42) были достоверно ($FDR \leq 0,05$) обогащены и имели положительные ПО, что указывает на транскрипционную активность факторов STAT3 и STAT6 (Рис. 18Б). В случае исследования наборов, содержащих гены с последовательностями для связывания ТФ NF-kB, было показано, что наборы GGGNNTTTCC_NFKB_Q6_01, NFKB_Q6_01, NFKAPPAB_01, NFKB_Q6 и NFKAPPAB65_01 были достоверно ($FDR \leq 0,05$) обогащены и имели положительные показатели обогащения 0.52, 0.49, 0.48, 0.46 и 0.45, соответственно, что указывает на выраженную NF-kB-зависимую транскрипционную активность (Рис. 18 В). Также были выявлены достоверные ($FDR \leq 0.05$) положительные показатели обогащения равные 0,47, 0.47, 0.45, 0.43, 0.44 и 0.43 для наборов, содержащих гены с последовательностями для связывания с транскрипционным фактором AP-1, такими как AP1_Q4, AP1_Q2_01, AP1_C, TGANTCA_AP1_C, AP1_Q4_01 и AP1_Q6, соответственно, что указывает на повышение транскрипционной активности AP-1 в клетках THP-1ad (Рис. 18 Г).

В литературе показано, что STAT3 активируется при воспалении в опухолевом микроокружении, в котором участвует цитокин ИЛ-6 (Huang, Lang, Li, 2022). Известно также, что с активностью транскрипционного фактора STAT6 может быть связано усиление воспалительного ответа и прогрессия опухолей (Delgado-Ramirez et al., 2021; Karpathiou et al., 2021). Регуляторный фактор интерферона IRF7 осуществляет регуляцию экспрессии интерферонов I типа (α и β), и известна его двоякая роль в качестве супрессора либо индуктора воспаления при опухолевых заболеваниях (Qing, Liu, 2023). Для ИНФ- α показана роль в поддержании воспаления в опухолевых очагах, однако, его продукция может как способствовать формированию опухолевого микроокружения, так и стимулировать противоопухолевый иммунный ответ через прямую цитостатическую, цитотоксическую и химиосенсибилизирующую активность в отношении лейкозных клеток (Holicek et al., 2023; Provance, Lewis-Wambi, 2019). Кроме того, сообщается, что ИНФ- α может способствовать дифференцировке моноцитов при лейкозе (Gabriele et al., 2004). Известно, что активация провоспалительного сигнального пути ИНФ- γ в опухолевом микроокружении осуществляется при участии ТФ IRF1 и AP-1 (Bhat et al., 2018; Jorgovanovic et al., 2020). Однозначно доказано, что основным индуктором и стимулятором хронического воспаления в нише костного мозга является ФНО α , который через NF-kB способствует формированию лейкозного микроокружения, поддерживающего благоприятную среду для продукции

лейкозных клеток, и их защите от индукторов клеточной гибели и иммунного надзора (Di Francesco et al., 2022; Zhang et al., 2021). Кроме того, сочетанное действие ФНО- α и ИНФ- γ в лейкозном микроокружении усиливает хроническое воспаление, тем самым способствуя образованию лейкозных стволовых клеток (Zhang et al., 2018; Schürch et al., 2013).

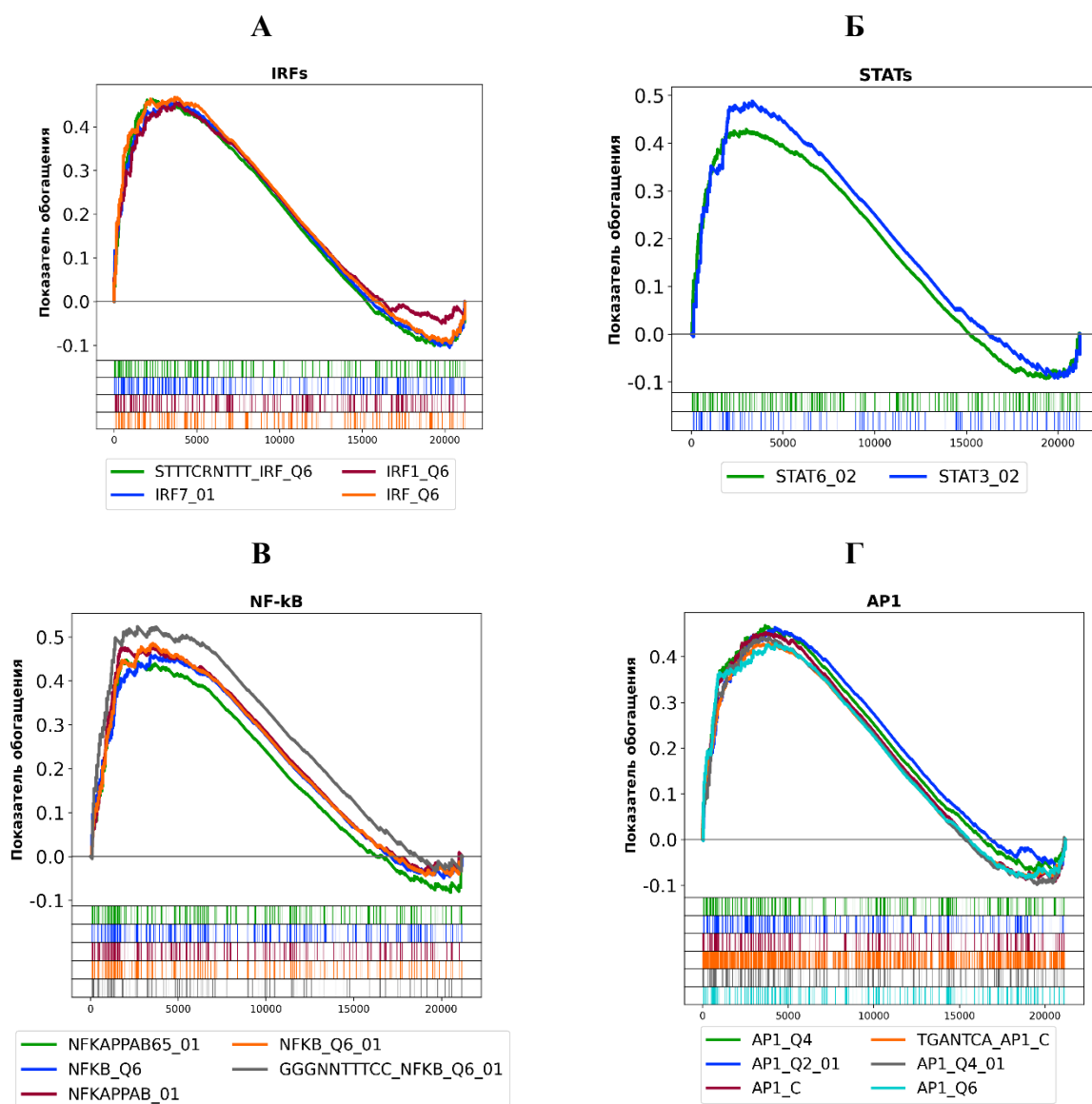


Рисунок 18. GSEA наборов генов из коллекции C3, субколлекции TFT:TFT LEGACY для ТФ семейства IRFs (А), семейства STATs (Б), NF-kB (В) и AP-1 (Г). FDR $\leq 0,05$

Дополнительно, с помощью GSEA коллекции Генная онтология (Биологические процессы) (GO:BP) было показано, что в макрофагоподобных клетках THP-1ad в сравнении с недифференцированными родительскими клетками THP-1 обогащены наборы генов миелоидной лейкоцитарной дифференцировки и макрофагальной дифференцировки (Рис. 19).

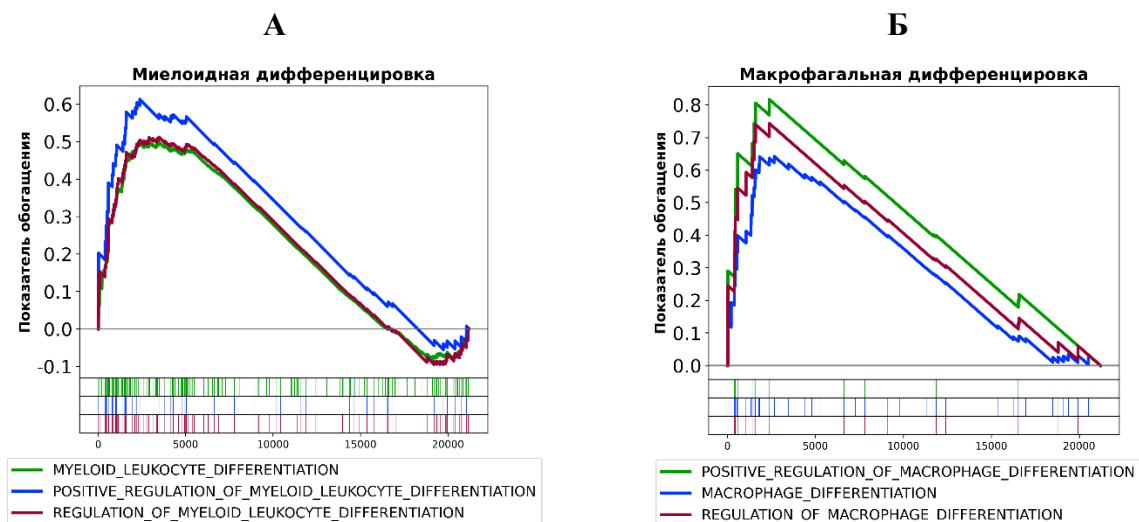


Рисунок 19. GSEA наборов генов, ассоциированных с миелоидной (А) и макрофагальной (Б) дифференцировкой, из коллекции Генная онтология Биологические процессы (GO:BP) в макрофагоподобных клетках ОМЛ THP-1ad, относительно недифференцированных родительских клеток THP-1. FDR ≤ 0.05 .

Из полученных результатов следует, что в макрофагоподобных клетках THP-1ad конститутивно активны провоспалительные сигнальные пути, ассоциированные с ИФН α и ИФН γ , ИЛ-6 и ФНО α . Также полученные данные указывают на участие в реализации идентифицированных сигнальных путей транскрипционных факторов IRF1, IRF7, STAT3, STAT6, NF-kB и AP-1, известных модуляторов воспаления в опухолевом микроокружении и устойчивости лейкозных клеток.

3.4.2 Идентификация и функциональная аннотация дифференциально экспрессируемых генов с наибольшим изменением экспрессии у макрофагоподобных клеток THP-1ad

В целях идентификации дифференциально экспрессируемых генов (ДЭГ), продукты которых с наибольшей вероятностью могут выступать в качестве регуляторов провоспалительных сигнальных путей у макрофагоподобных клеток THP-1ad, из 21511 транскрибируемых генов были отобраны 355 ДЭГ, соответствующих параметру $-2 \geq \text{Log}_2(\text{КИ}) \geq 2$. Из 355 отобранных ДЭГ было выявлено, что 286 генов обладали повышенной, а 69 генов пониженной экспрессией, относительно недифференцированных родительских клеток THP-1 (Рис. 20А).

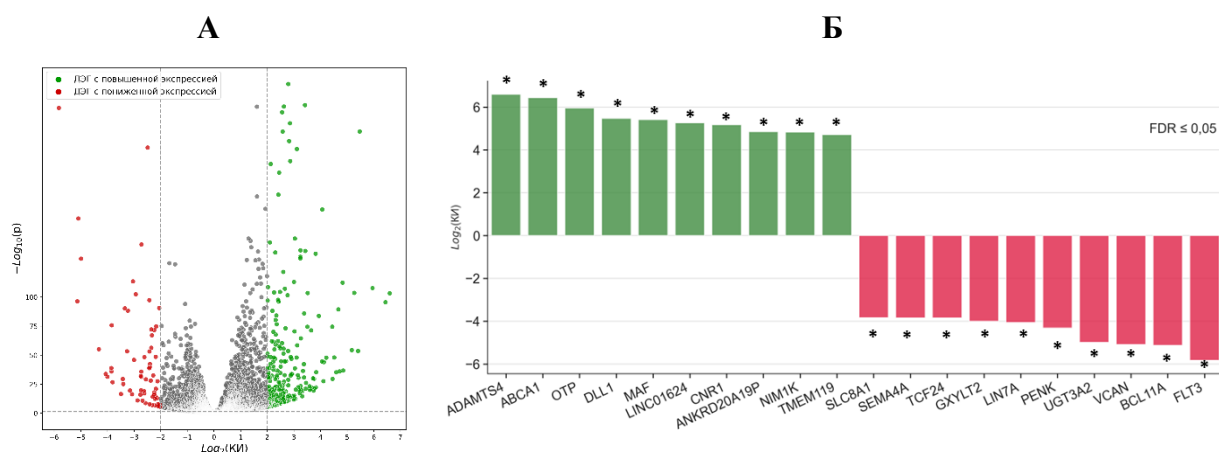


Рисунок 20. Volcano диаграмма распределения ДЭГ с повышенной и пониженной экспрессией (А) и ДЭГ с наибольшими показателями изменения экспрессии у макрофагоподобных клеток THP-1ad, относительно недифференцированных родительских клеток THP-1 (Б). * - $p \leq 0,001$.

Было выявлено, что в топ генов с повышенной и пониженной регуляцией входят в основном гены, отвечающие за дифференцировку, а также выживание клеток (Рис. 20Б). Так, экспрессия гена ADAMTS4 у макрофагоподобных клеток была значительно повышена ($\log_2(\text{КИ}) = 6,60 \pm 0,31$ (повышение в 97 раз)), относительно клеток THP-1. Экспрессия протеаз семейства ADAMTS индуцируется при воспалении (Wågsäter et al., 2008) и при дифференцировке моноцитов в макрофаги (Ashlin, Kwan, Ramji, 2013). Также у макрофагоподобных клеток THP-1ad обнаружено достоверное увеличение количества транскриптов генов, ассоциированных с активацией Notch - сигнального пути ($\log_2(\text{КИ})$ для гена DLL4 составило $4,59 \pm 0,37$ (повышение в 24 раза), а $\log_2(\text{КИ})$ для гена DLL1 - $5,47 \pm 0,16$ (повышение в 44 раза)), по сравнению с клетками THP-1. Активация Notch-сигнального пути стимулирует пролиферацию и подавляет апоптоз при гемопоэзе, в том числе через подавление проапоптотических TRAIL-рецепторов (Lainez-Gonzalez, Serrano-Lopez, Alonso-Dominguez, 2022; Portanova et al., 2013). Кроме того, сигнальный путь Notch является важным участником в передаче воспалительного сигнала иммунными клетками, в том числе в процессе онкогенеза (Fazio, Ricciardiello, 2016; Gallenstein et al., 2023). В целом сверхэкспрессия генов ABCA1, MAF, CNR1, GPNMB свойственна для индуцированной воспалением макрофагальной дифференцировки (Ripoll et al., 2007; Saade et al., 2021; Soucie et al., 2016; Tang et al., 2009; Taya, Hammes, 2018; Jourdan et al., 2017; Kikuchi et al., 2018; Ruberti et al., 2016).

Из топа 10 генов с пониженной регуляцией у клеток THP-1ad можно выделить ген VCAN, экспрессия которого значительно снижена ($\log_2(\text{КИ}) = -5,09 \pm 0,18$ (снижение в 34 раза)), продуктом которого является версикан - протеогликан хондроитинсульфата

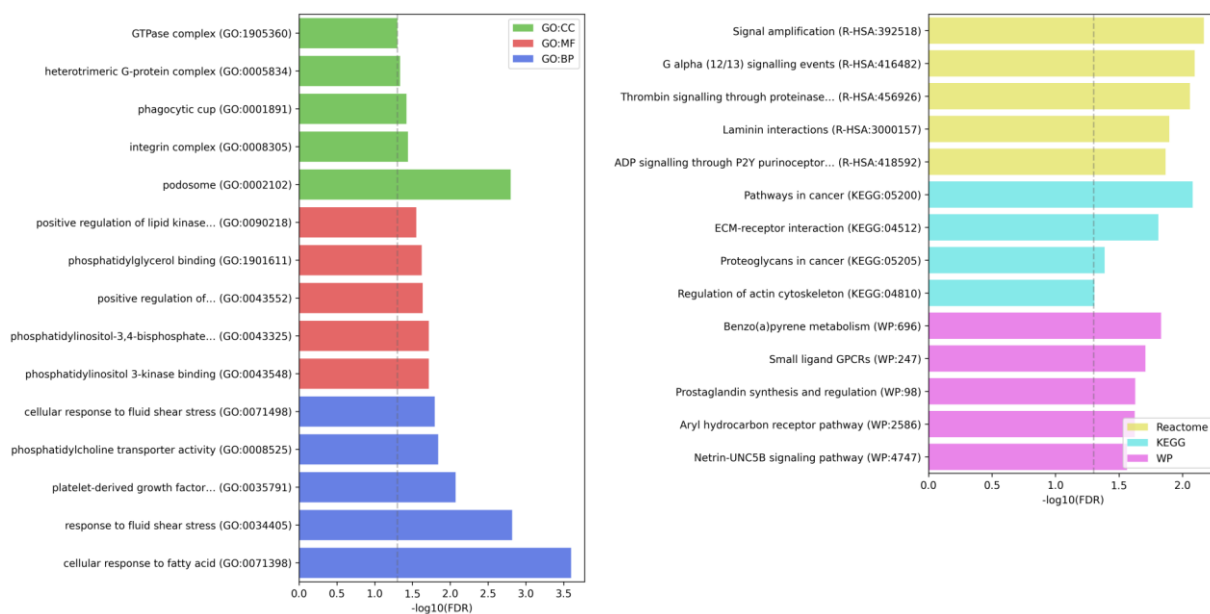
внеклеточного матрикса. На клеточной поверхности данный протеогликан участвует во взаимодействии интегринов с белками ВКМ, он является «антиадгезивной» молекулой и мешает взаимодействию интегринов клеточной мембраны с белками ВКМ. Таким образом, возможно, что адгезия макрофагоподобных клеток к ВКМ, помимо интегринов $\alpha V\beta 5$, может быть опосредована снижением представленности версикана на мембране клеток. Также для клеток THP-1ad показана сильная пониженная регуляция гена BCL11A, что характерно для дифференцировки клеток в процессе гемопоэза (Saiki et al., 2000). Кроме того, у макрофагоподобных клеток THP-1ad было выявлено по сравнению с родительскими клетками THP-1 снижение экспрессии гена FLT3 (fms-подобная тирозинкиназа 3, $\log_2(\text{КИ}) = -5,82 \pm 0,17$ (снижение в 56 раз)). Продуктом этого гена является рецепторная тирозинкиназа (CD135), которая связывает на мембране клеток цитокин FLT3-L (fms-подобный лиганд тирозинкиназы 3) и регулирует дифференцировку, пролиферацию и выживание гемопоэтических клеток-предшественников и дендритных клеток (Tsarogas et al., 2017). Известно, что экспрессия FLT3 характерна для незрелых гемопоэтических клеток, а снижение выраженности этого рецептора наблюдается в том числе при дифференцировке клеток миелоидного ряда (Kikushige et al., 2008). Кроме того, сообщается о возможности лиганда FLT3 стимулировать экспрессию TRAIL-рецепторов у лейкозных клеток и моноцитов, а ингибирование FLT3 может подавлять экспрессию TRAIL-рецепторов в клетках ОМЛ (Riccioni et al., 2011).

Функциональная аннотация идентифицированных ДЭГ показала, что у макрофагоподобных клеток THP-1ad ДЭГ с повышенной экспрессией достоверно ($\text{FDR} \leq 0,05$) участвуют в нескольких группах процессов, таких как: передача сигнала в клетке (GO:1905360, GO:005834, R-HSA:392518, R-HSA:416482, R-HSA:418592, WP:247); дифференцировка и адгезия клеток к ВКМ (GO:0001891, GO:0008305, GO:0002102, R-HSA:3000157, KEGG:04512, KEGG:04810); сигнальные фосфолипиды (GO:0090218, GO:1901611, GO:0043552, GO:0043325, GO:0043548, GO:0008525); ответ на воспаление (GO:0071398, WP:98); а также активация протонкогенов (GO:0071498, GO:0071398, KEGG:05200, KEGG:05205, WP:4747). Также можно выделить их участие в сигнальном пути PDGFR β , так как известно его ключевая роль в миелоидной дифференцировке лейкозных клеток (Reiterer, Yen, 2007) (Рис. 21А).

В свою очередь, ДЭГ с пониженной экспрессией достоверно ($\text{FDR} \leq 0,05$) принимают участие в процессах, ассоциированных с активностью ингибитора регулятора транскрипции (GO:0140416), остеобластной дифференцировкой (GO:0001649), подавлением опухолевого роста (WP:4541, WP:4747). Также данные ДЭГ участвуют в регуляции сигнальных путей Rap1 (KEGG:04015) и ТФР- β (KEGG:04350), подавление

которых может быть ассоциировано с нарушение дифференцировки миелоидных клеток и развитием лейкозов (Dong, Blobe, 2006; Qiu et al., 2012) (Рис. 21Б).

А



Б

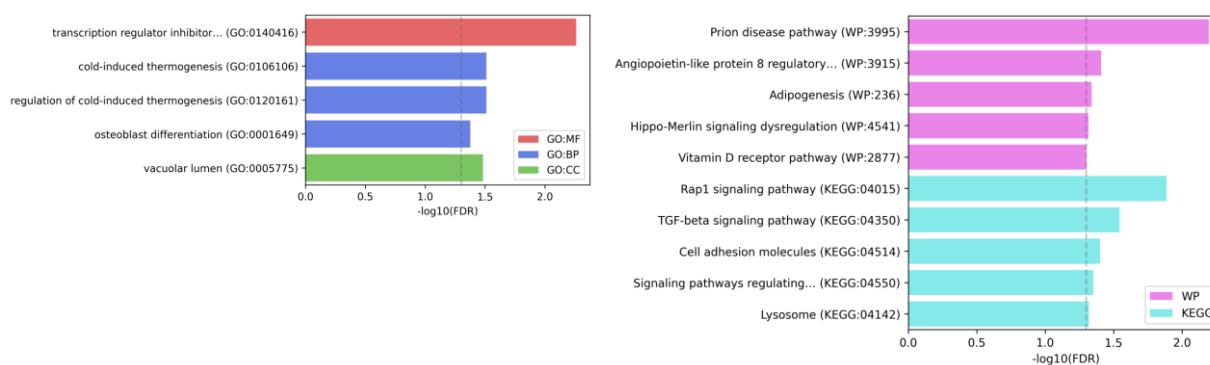


Рисунок 21. Функциональная аннотация ДЭГ с повышенной (А) и пониженной (Б) регуляцией в клетках ТНР-1ad, построенная с использованием интернет-ресурсов Генная онтология (GO), Киотская энциклопедия генов и геномов (KEGG), WikiPathways (WP) и базы данных Reactome. MF - молекулярные функции, BP - биологические процессы, CC - клеточные компоненты. Вертикальная линия - значение $-\log_{10}(\text{FDR}) = 1,30$. $\text{FDR} \leq 0,05$

Таким образом, в макрофагоподобных клетках ТНР-1ad ДЭГ с наибольшими изменениями ассоциированы с макрофагальной дифференцировкой, адгезией к белкам внеклеточного матрикса, ответом на воспаление, активацией протонкогенов и путей выживания, что, в свою очередь, указывает на повышение активности данных процессов в клетках.

алгоритмов модуля cytoHubba, подключаемого к программному обеспечению Cytoscape (Chin et al., 2014). Кластеризация позволяет выявить наиболее вероятных генов-концентраторов, которые потенциально могут оказывать наибольший вклад в формирование сети ББВ и, тем самым, являться наиболее вероятными регуляторами TRAIL резистентности у макрофагоподобных клеток ТНР-1ad. Таким образом, были выделены 20 генов, имеющих наибольшее значение ранга в анализируемой сети ББВ. Ранг в сети ББВ показывает степень «важности» данного гена, то есть, чем выше ранг (чем ближе к нулю), тем более значимым для формирования сети считается данный ген (Рис. 23).

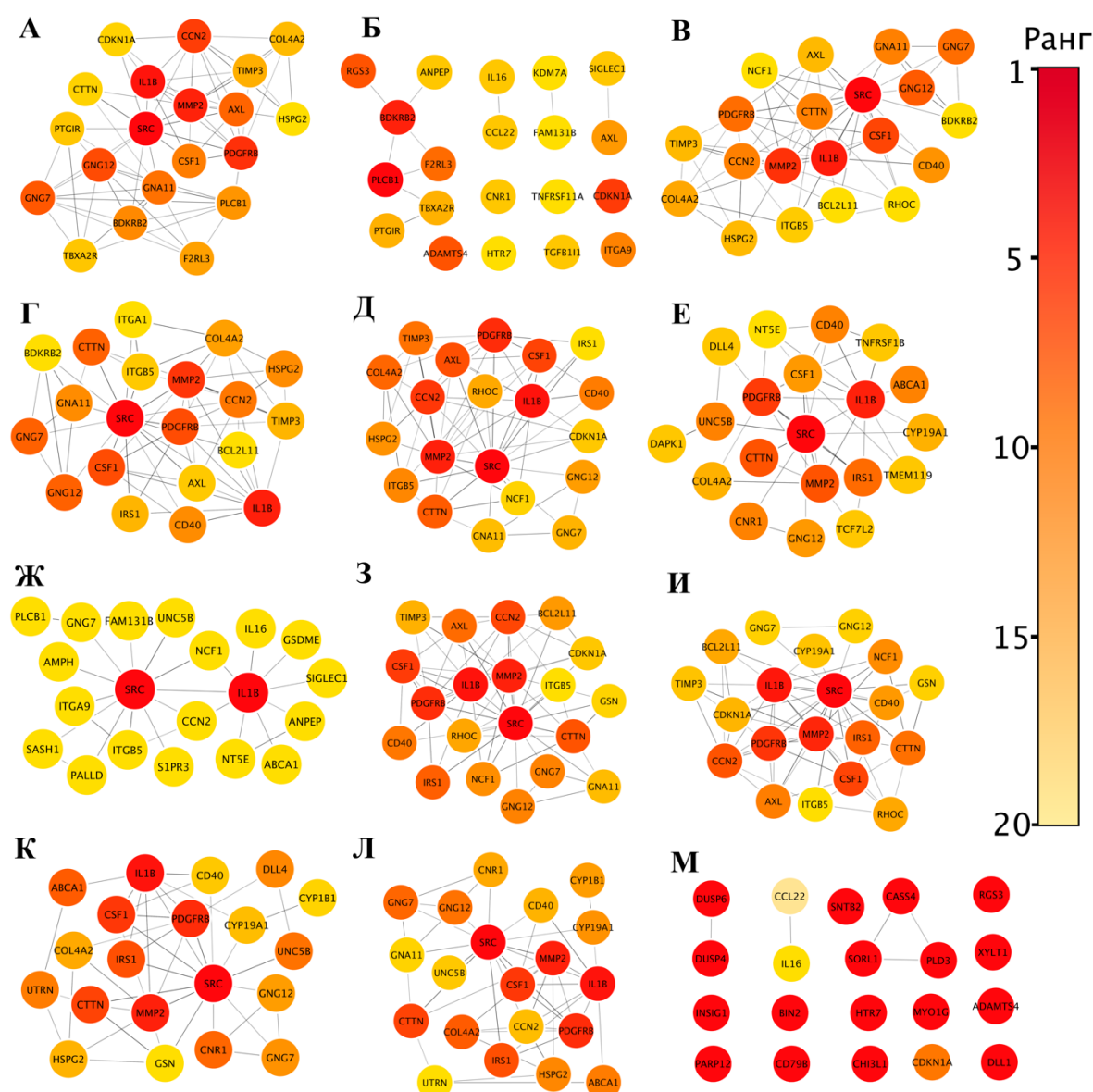


Рисунок 23. Кластеризация сети ББВ для ДЭГ с повышенной экспрессией, выполненная с использованием алгоритмов модуля cytoHubba: MCC (А), DMNC (Б), MNC (В), Degree (Г), EPC (Д), BottleNeck (Е), EcCentricity (Ж), Closeness (З), Radiality (И), Betweenness (К), Stress (Л), ClusteringCoefficient (М).

Далее из представленных на рисунке 23 кластеров сети ББВ были выбраны 5 наиболее повторяющихся генов с наибольшим значением ранга, таких как: *CSF1*, который кодирует макрофагальный колоние-стимулирующий фактор (М-КСФ), *PDGFRB*, кодирующий рецептор для тромбоцитарного фактора роста (ТФР), *MMP2*, кодирующий матриксную металлопротеиназу 2, *SRC*, кодирующий нерецепторную тирозинкиназу SRC и *IL1B*, кодирующий интерлейкин 1 β (ИЛ-1 β). Участие продуктов идентифицируемых генов-концентраторов хорошо известно, как в миелоидном созревании и провоспалительной активации клеток, так и в прогрессии ОМЛ. Показано, что М-КСФ не только регулирует дифференцировку макрофагов, но и является перспективной мишенью для терапии ОМЛ (Sletta, Castells, Gjertsen, 2021; Jones, Ricardo, 2013). Известна важная роль рецептора ТФР в миелоидном созревании лейкозных клеток и в активации протоонкогенных тирозинкиназ семейства SRC, а также в поддержании пролиферации и жизнеспособности опухолевых клеток (Pandey et al., 2023; Reiterer, Yen, 2007; Shah, Vincent, 2005). Тирозинкиназы SRC являются своеобразными сигнальными интеграторами необходимыми для нормального гемопоэза и в то же время, для прогрессии острых лейкозов (Voisset et al., 2020; Patel et al., 2019). Также достаточно изучена роль ИЛ-1 β в развитии как воспалительных процессов, так и злокачественных новообразований. В частности, ИЛ-1 β -опосредованное хроническое воспаление часто ассоциировано с возникновением и прогрессией злокачественных опухолей, а также с непосредственной регуляцией дифференцировки миелоидных клеток и сигнальных путей, опосредующих выживание лейкозных клеток (Liu et al., 2014; Arranz, Arriero, Villatoro, 2017; Mon, Senga, Ito, 2017). В свою очередь, для матриксных металлопротеиназ показано участие в миграции миелоидных клеток, индуцированной воспалением, подавление активности которых существенно снижает жизнеспособность и пролиферацию клеток ОМЛ (Chou, Chan, Werb, 2016; Pirillo et al., 2022).

Таким образом, в макрофагоподобных клетках THP-1ad были выявлены наиболее вероятные гены-регуляторы активированных сигнальных путей, такие как *CSF1*, *PDGFRB*, *MMP2*, *SRC* и *IL1B*. Потенциально продукты идентифицированных генов могут выступать в качестве мишеней для подавления TRAIL-резистентности клеток THP-1ad.

3.4.4 Анализ сетей взаимодействия продуктов идентифицированных генов-концентраторов с представителями семейств IAP, BCL-2 и рецепторами к TRAIL

Сегодня хорошо известно, что антиапоптотические белки семейств BCL-2 и IAP, которые ингибируют апоптоз на уровне митохондрий и эффекторных каспаз, могут

являться основными внутриклеточными позитивными регуляторами резистентности клеток ОМЛ к TRAIL-индуцированному апоптозу (Garciaz et al., 2023; Hao et al., 2003; Saraei et al., 2018). С целью обнаружения потенциального взаимодействия идентифицированных генов-концентраторов с антиапоптотическими представителями семейств IAP и BCL-2 было проведено построение сетей ББВ.

Было определено, что из пяти выявленных генов-регуляторов с представителями семейства IAP взаимодействуют только три гена, такие как: *MMP2* (партнеры *BIRC5* и *XIAP*), *IL1B* (партнеры *BIRC2*, *BIRC3*, *NAIP* и *XIAP*) и *SRC* (партнеры *BIRC2* и *XIAP*) (Рис. 24 А). В свою очередь, все пять генов-концентраторов взаимодействуют с представителями семейства BCL-2. Партнерами гена *IL1B* являются *BCL2*, *BCL2A1* и *MCL1*, для генов *SRC*, *PDGFRB* и *MMP2* партнерами выступают *BCL2*, *BCL2L1* и *MCL1*, а для гена *CSF1* партнером является *BCL2* (Рис. 24 Б).

В целом все идентифицированные гены-концентраторы могут взаимодействовать с антиапоптотическими представителями семейств IAP и BCL-2, что говорит о потенциальной возможности участия представителей данных семейств в механизме устойчивости макрофагоподобных клеток THP-1ad к TRAIL-индуцированной гибели.

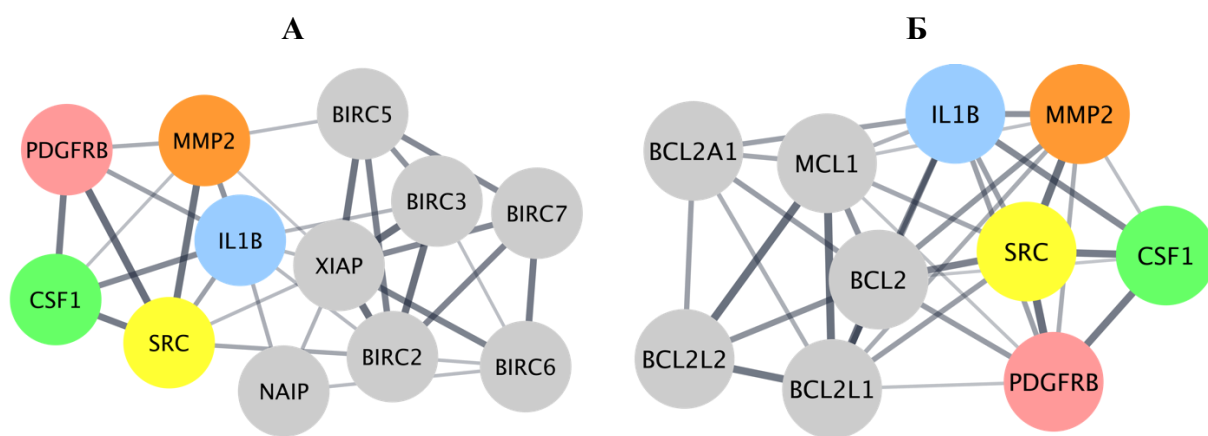


Рисунок 24. Сети ББВ продуктов идентифицированных генов-концентраторов *IL1B*, *SRC*, *PDGFRB*, *MMP2* и *CSF1* с антиапоптотическими представителями семейств IAP (А) и BCL-2 (Б).

Затем методом количественной ПЦР с обратной транскрипцией была оценена дифференциальная экспрессия всех антиапоптотических членов семейства IAP и BCL-2 у макрофагоподобных клеток THP-1ad относительно недифференцированных родительских клеток THP-1. В дополнение, экспрессия тех же генов была оценена у дифференцированных клеток THP-1PMA и клеток THP-1, обработанных известным

провоспалительным активатором - липополисахаридом (THP-1ЛПС) (Chanput, Mes, Wichers, 2014; Page, Kell, Pretorius, 2022).

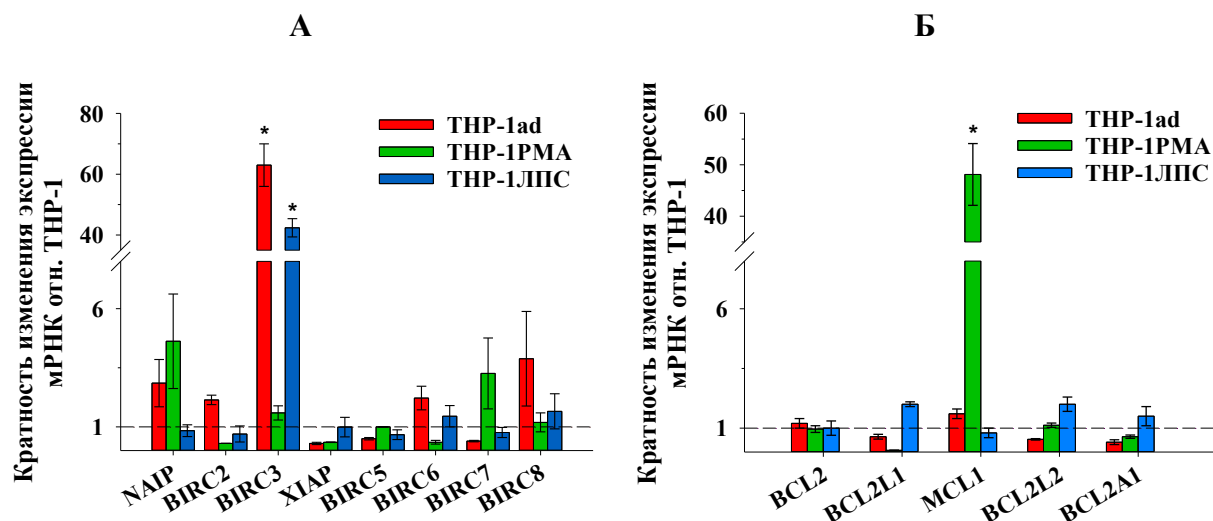


Рисунок 25. Оценка дифференциальной экспрессии генов семейств IAP (А) и BCL-2 (Б) у клеток THP-1ad у клеток THP-1ad, THP-1PMA и THP-1ЛПС, относительно клеток THP-1. Данные приведены в виде среднего значения $\pm$ SD ($n \geq 5$). * $p \leq 0.05$ в сравнении с родительскими клетками THP-1.

Было выявлено, достоверное ($p \leq 0.05$) в 63 ± 7 раза увеличение экспрессии гена *BIRC3* у клеток THP-1ad, который кодирует белок cIAP2, ингибитор каспаз 3, 7, 8 и 10 (Mohamed et al., 2017). Аналогичные результаты были получены для клеток THP-1ЛПС, для которых также было выявлено достоверное ($p \leq 0.05$) в 42 ± 3 раза увеличение экспрессии только гена *BIRC3*. У THP-1PMA достоверного увеличения экспрессии представителей семейства IAP обнаружено не было (Рис. 25А). При анализе экспрессии генов антиапоптотических представителей семейства BCL-2 было показано только для клеток THP-1PMA достоверное ($p \leq 0.05$) в 48 ± 6 раз увеличение экспрессии гена *MCL-1*, ингибитора проапоптотических белков Bax и Bak (Рис. 25Б) (Sancho et al., 2022).

Известно, что изменение баланса мембраносвязанных про- и антиапоптотических TRAIL-рецепторов может играть основную роль в повышении устойчивости клеток к TRAIL-индуцированной гибели (Falschlehner et al., 2007; Twomey et al., 2015), кроме того, для миелоидной дифференцировки и провоспалительной активации лейкозных клеток, характерно подавление экспрессии проапоптотических TRAIL-рецепторов DR4 и DR5 (Mirandola et al., 2006; Shiiki et al., 2000). Поэтому для определения потенциального взаимодействия продуктов идентифицированных генов-концентраторов с продуктами мембраносвязанных генов TRAIL-рецепторов, было проведено построение сети ББВ и оценена поверхностная экспрессия проапоптотических (DR4 и DR5) и антиапоптотических

(DcR1 и DcR2) TRAIL-рецепторов на поверхности клеток THP-1ad по сравнению с родительскими клетками THP-1, клетками THP-1PMA, а также клетками THP-1ЛПС.

Было обнаружено, что среди пяти идентифицированных генов-концентраторов с проапоптотическими представителями мембраносвязанных TRAIL-рецепторов взаимодействует только ген *IL1B* (партнеры *TNFRSF10A* (DR4) и *TNFRSF10B* (DR5)) (Рис. 26А).

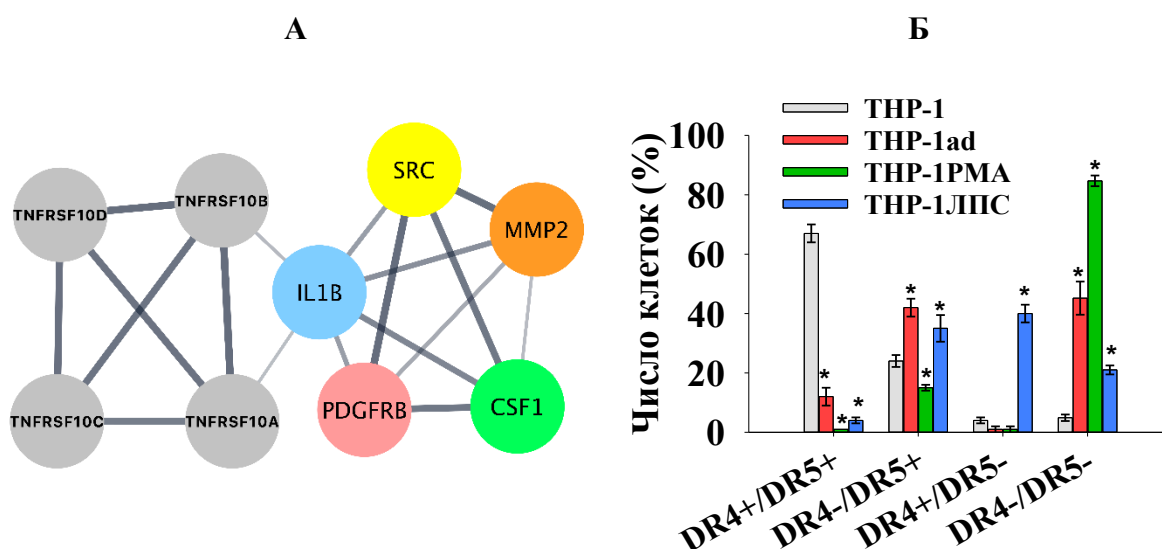


Рисунок 26. Сеть взаимодействий продуктов идентифицированных генов-концентраторов *IL1B*, *SRC*, *PDGFRB*, *MMP2* и *CSF1* с продуктами генов TRAIL-рецепторов (А) и оценка DR-позитивных и DR-негативных популяций среди родительских клеток THP-1, клеток THP-1ad, клеток THP-1PMA и клеток THP-1ЛПС (Б). Данные приведены в виде среднего значения $\pm$ SD, ($n \geq 5$). * - $p < 0,05$ относительно родительских клеток THP-1.

Было показано, что у всех типов исследуемых клеток отсутствует поверхностная экспрессия антиапоптотических TRAIL-рецепторов DcR1, кодируется геном *TNFRSF10C*, и DcR2, кодируется геном *TNFRSF10D*.

При анализе поверхностной экспрессии проапоптотических TRAIL-рецепторов DR4 и DR5 было исследовано распределение DR4/DR5-позитивной (DR4+/DR5+), DR4-позитивной/DR5-негативной (DR4+/DR5-), DR4-негативной/DR5-позитивной (DR4-/DR5+) и DR4/DR5-негативной (DR4-/DR5-) популяций среди родительских клеток THP-1, клеток THP-1ad, клеток THP-1PMA и клеток THP-1ЛПС. Показано, что среди клеток THP-1ad достоверно ($p < 0,05$) меньше популяция DR4+/DR5+ ($12 \pm 3\%$) и больше DR4-/DR5+ ($42 \pm 3\%$) клеток, относительно родительских клеток THP-1, $67 \pm 3\%$ и $24 \pm 2\%$, соответственно. Кроме того, среди клеток THP-1ad $45 \pm 5\%$ являются DR4-/DR5-, в отличие от родительских клеток THP-1, среди которых только около $5 \pm 1\%$ DR4-/DR5- клеток. В свою очередь,

среди клеток ТНР-1РМА и ТНР-1ЛПС популяция DR4-/DR5- клеток составляла $85 \pm 1\%$ и $21 \pm 2\%$, соответственно (Рис. 26Б).

Далее было проведена оценка поверхностной экспрессии проапоптотических TRAIL-рецепторов DR4 и DR5 по интенсивности флуоресценции DR-положительной популяции родительских клеток ТНР-1, клеток ТНР-1ad, клеток ТНР-1РМА и клеток ТНР-1ЛПС, окрашенных соответствующими моноклональными антителами. Было показано, что поверхностная экспрессия обоих рецепторов DR4 и DR5 у всех исследуемых DR-положительных клеток не отличается в пределах исследованных клеток, что в свою очередь указывает на близкие уровни поверхностной экспрессии проапоптотических TRAIL-рецепторов у DR-положительной популяции родительских клеток ТНР-1, клеток ТНР-1ad, клеток ТНР-1РМА и клеток ТНР-1ЛПС (Рис. 27).

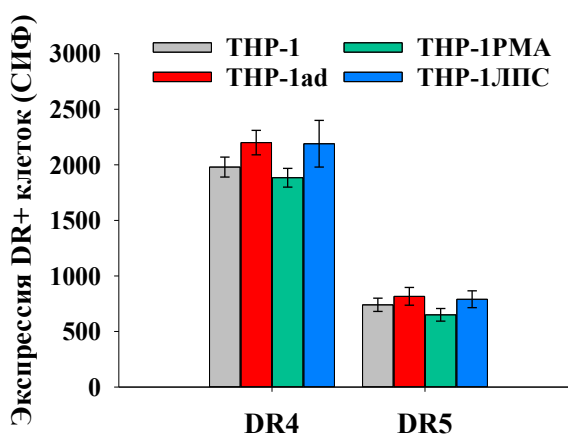


Рисунок 27. Оценка поверхностной экспрессии проапоптотических TRAIL-рецепторов DR4 и DR5 у DR-положительной популяции родительских клеток ТНР-1, клеток ТНР-1ad, клеток ТНР-1РМА и клеток ТНР-1ЛПС. СИФ – средняя интенсивность флуоресценции в пр. ед. Данные приведены в виде среднего значения $\pm$ SD, ($n \geq 5$).

Таким образом, для макрофагоподобных клеток ТНР-1ad показано увеличение экспрессии гена *BIRC3*, кодирующего антиапоптотический белок семейства IAP – cIAP2, что также характерно для клеток ТНР-1, обработанных ЛПС, известным индуктором провоспалительной активации. Также для макрофагоподобных клеток ТНР-1ad показано выраженное увеличение DR4/DR5-негативной (DR4-/DR5-) популяции клеток, что, в свою очередь, характерно для клеток дифференцированных в макрофагальном направлении. Кроме того, ген *BIRC3* и гены TRAIL-рецепторов *TNFRS10A* и *TNFRS10B* являются партнёрами идентифицированного гена-концентратора *IL1B*, который потенциально может выступать как ключевой регулятор активации провоспалительных сигнальных путей в клетках ТНР-1ad, что указывает на вероятное участие IL1 β -опосредованной

провоспалительной активации в формировании резистентности клеток THP-1ad к цитотоксическому действию TRAIL.

3.5 Оценка возможности подавления устойчивости макрофагоподобных клеток ОМЛ THP-1ad к TRAIL-индуцированной гибели

3.5.1 Анализ влияния ингибирования адгезии клеток THP-1ad на устойчивость к TRAIL-индуцированной гибели

Известно, что адгезия клеток к твердому субстрату может опосредовать лекарственную устойчивость опухолевых клеток (Aoudjit, Vuori, 2012; Lin et al., 1995).

Для ингибирования адгезии макрофагоподобных клеток THP-1ad к твердому субстрату был использован синтетический RGD-пептид Cilengitide, антагонист α V-интегринов, который, как было показано ранее в работе, препятствовал адгезии к твердому субстрату у $93 \pm 3\%$ клеток THP-1ad. Было выявлено, что применение Cilengitide не влияло на устойчивость макрофагоподобных клеток THP-1ad к TRAIL-индуцированной гибели, что говорит о том, что устойчивость данных клеток не связана с адгезией (Рис. 28).

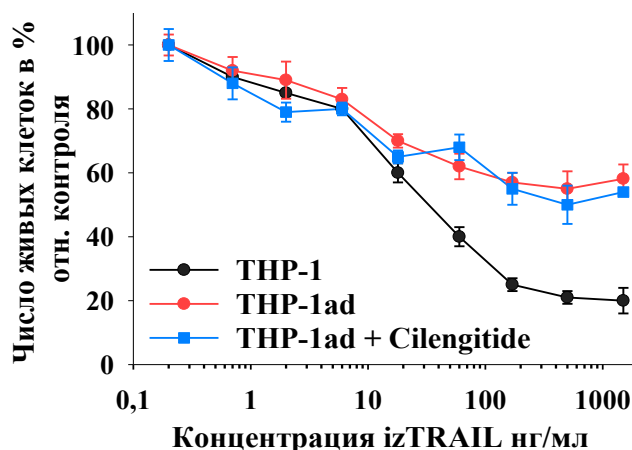


Рисунок 28. Оценка влияния синтетического RGD-пептида Cilengitide на чувствительность макрофагоподобных клеток THP-1ad к цитотоксическому действию izTRAIL. Данные приведены в виде среднего значения $\pm$ SD, ($n \geq 5$).

3.5.2 Изучение влияния низкомолекулярных ингибиторов тирозин-специфичных протеинкиназ, химиотерапевтических и противовоспалительных препаратов на устойчивость клеток THP-1ad к TRAIL-индуцированной гибели

Известно, что нарушение регуляции основных тирозин-специфичных протеинкиназ может существенно содействовать трансформации нормальных миелоидных клеток в

злокачественные при ОМЛ, их распространению по организму, пролиферации и выживанию. На сегодняшний день исследуются основные тирозин-специфичные протеинкиназы FLT3, JAK2, KIT, BCR-ABL и SRC с мутациями, приводящими к их перманентной активации, которые могут выступать в роли мишеней для таргетной терапии ОМЛ (Megías-Vericat et al., 2020). Были выбраны три низкомолекулярных ингибитора тирозин-специфичных протеинкиназ, которые применяются в лечении ОМЛ. Сорафениб - мультикиназный ингибитор, специфичен в отношении рецепторов фактора роста эндотелия сосудов (VEGFR), рецептора Fms-подобной тирозинкиназы-3 (FLT3), рецептора тромбоцитарного фактора роста (PDGFR- β) и рецептора нейротрофического глиального фактора (RET) (Abdulghani et al., 2013; Xuan et al., 2023). Бозутиниб – селективно ингибирует протеинкиназы семейства SRC и BCR-ABL (Shuvaev et al., 2018; Cortes et al., 2016). Квизартиниб - высокоселективно ингибирует рецептор Fms-подобной тирозинкиназы-3 (FLT3), наряду с рецепторными протеинтирозинкиназами KIT, RET, PDGFR- β и - α и рецептором колониестимулирующего фактора роста 1 (CSF-1R) (Erba et al., 2023; Levis, 2014).

Клетки THP-1ad предварительно инкубировали в течение 24 часов с нетоксичными концентрациями квизартиниба (1 μ M), бозутиниба (0,5 μ M) или сорафениба (0,5 μ M), после чего к клеткам добавляли izTRAIL еще на 24 часа. Обработка квизартинибом, а также бозутинибом и сорафенибом не изменяла чувствительность макрофагоподобных клеток THP-1ad к TRAIL-индуцированной гибели. (Рис. 29А).

На сегодняшний момент, стандартным протоколом индукционной химиотерапии ОМЛ является применение антрациклинов (доксорубицина или идарубицина) и цитарабина (Sherif et al., 2021). Механизм действия доксорубицина заключается во встраивании между оснований нитей ДНК и ингибировании топоизомеразы II, что приводит к разрыву нитей ДНК и апоптозу опухолевых клеток (Yang, Kemp, Henikoff, 2015). Апоптотическое действие цитарабина основано на его способности встраиваться в ДНК в процессе репликации, так как он является аналогом пиримидина, что приводит к остановке синтеза, разрывам ДНК и апоптозу (Di Tullio et al., 2017).

Клетки THP-1ad предварительно инкубировали с нетоксичными концентрациями доксорубицина (0,1 μ M) и цитарабина (1 мкг/мл) в течение 24 часов, после чего к клеткам добавляли izTRAIL еще на 24 часа. Было показано, что обработка как доксорубицином, так цитарабином не изменяла чувствительность макрофагоподобных клеток THP-1ad к TRAIL-индуцированной гибели. (Рис. 29Б).

Также была проведена оценка возможности подавления устойчивости макрофагоподобных клеток ОМЛ THP-1ad к действию izTRAIL с помощью применения

противовоспалительных препаратов. В качестве противовоспалительных агентов были использованы NF- κ B Activation Inhibitor IV - низкомолекулярный ингибитор транскрипционного фактора NF- κ B, преднизолон – иммуносупрессорный глюкокортикоид и диклофенак - нестероидный противовоспалительный препарат. Известно, что NF- κ B Activation Inhibitor IV подавляет фосфорилирование RelA (p65) – основной субъединицы NF- κ B, мешая его активации (Liu et al., 2017). Преднизолон на клеточном уровне подавляет экспрессию воспалительных генов путем ингибирования активности ТФ AP-1 и NF- κ B, подавляет провоспалительную активацию макрофагов, а также усиливает высвобождение противовоспалительных цитокинов (Kim et al., 2020). Для диклофенака также показан эффект, связанный с подавлением моноцитами продукции медиаторов воспаления (Kim et al., 2016).

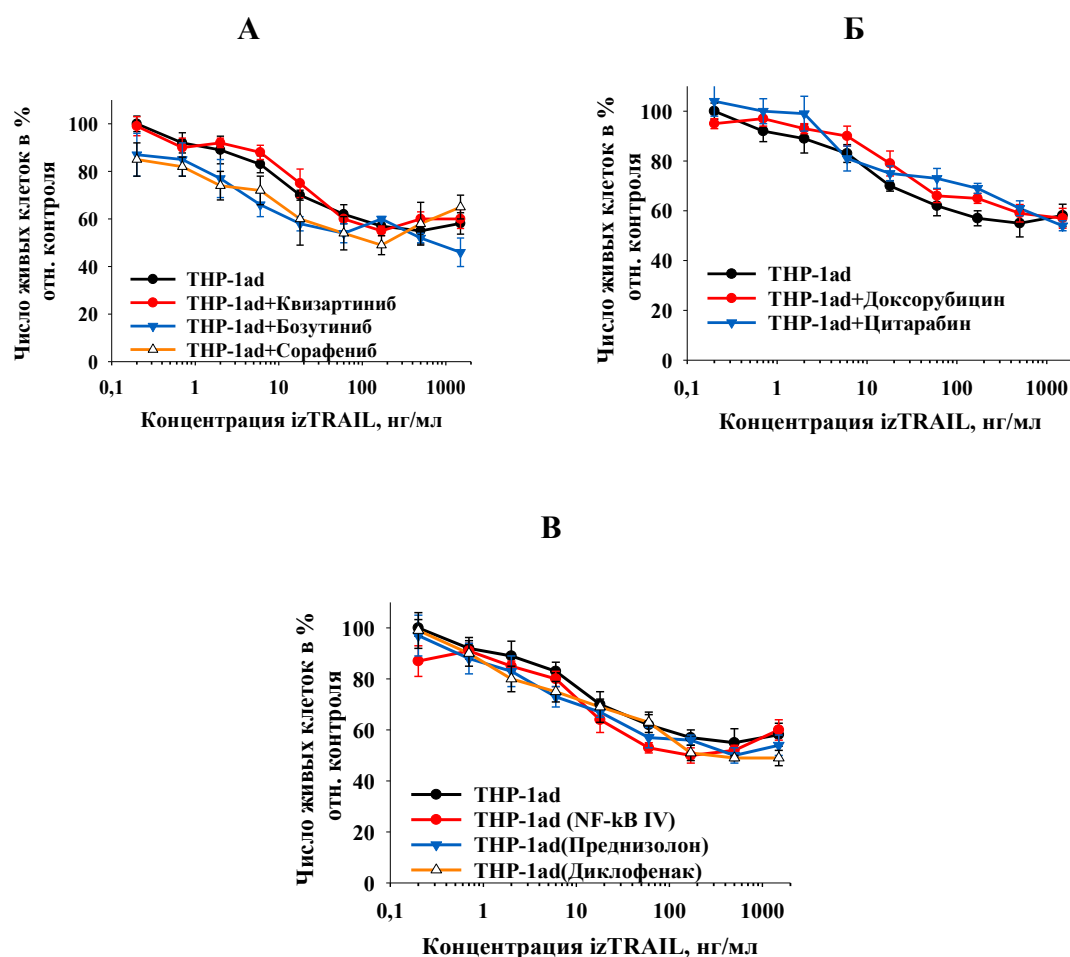


Рисунок 29. Оценка цитотоксического действия белка izTRAIL на макрофагоподобные клетки ОМЛ THP-1ad при их совместной инкубации: с квизартинибом, бозутинибом и сорафенибом (А); с доксорубицином и цитарабином (Б); с NF- κ B Activation Inhibitor IV, преднизолоном и диклофенаком (В). Данные приведены в виде среднего значения $\pm$ SD, ($n \geq 5$).

Клетки THP-1ad предварительно инкубировали с нетоксичными концентрациями NF-κB Activation Inhibitor IV (50 нМ), преднизолона (25 μМ) или диклофенака (25 μМ) в течение 24 часов, после чего к клеткам добавляли izTRAIL еще на 24 часа. Обработка как NF-κB Activation Inhibitor IV, так преднизолоном и диклофенаком не изменяла чувствительность макрофагоподобных клеток THP-1ad к TRAIL-индуцированной гибели. (Рис. 29В).

Таким образом, было показано, что применение низкомолекулярных ингибиторов тирозин-специфичных протеинкиназ, химиотерапевтических и противовоспалительных препаратов не снижало устойчивость макрофагоподобных клеток THP-1ad к TRAIL-индуцированной гибели, что может свидетельствовать об иных механизмах устойчивости данных клеток к цитотоксическому действию белка TRAIL.

3.5.3 Изучение влияния низкомолекулярных индукторов экспрессии проапоптотических TRAIL рецепторов на устойчивость клеток THP-1ad к TRAIL-индуцированной гибели

Известно, что миелоидная дифференцировка и провоспалительная активация лейкозных клеток приводит к снижению поверхностной экспрессии проапоптотических TRAIL-рецепторов DR4 и DR5, что в свою очередь, повышает устойчивость клеток к TRAIL-индуцированной гибели (Mirandola et al., 2006; Shiiki et al., 2000). Также ранее в работе было показано, что у макрофагоподобных клеток ОМЛ THP-1ad повышение устойчивости к TRAIL-индуцированной гибели происходит на фоне увеличения количества клеток негативных по DR4 и DR5, то есть с полным отсутствием на клеточной мембране проапоптотических TRAIL-рецепторов DR4 и DR5. Поэтому была проведена оценка возможности подавления устойчивости макрофагоподобных клеток ОМЛ THP-1ad к действию izTRAIL с помощью применения соединений индукторов поверхностной экспрессии проапоптотических рецепторов к TRAIL, в частности индукторов поверхностной экспрессии рецептора DR5, таких как ONC201, туникамицин и субероиланилид гидроксамовой кислоты (SAHA) (Guo et al., 2017; Martin-Perez, Niwa, Lopez-Rivas, 2012; Nakata et al., 2004).

Туникамицин ингибирует N-гликозилирование белков, приводя к накоплению в клетке неправильно свернутых белков, что индуцирует ЭПР-стресс и активирует UPR, ответ на неправильный фолдинг белков. Сигнальный путь UPR приводит к активации транскрипционных факторов ATF4 и CHOP, которые индуцируют повышение экспрессии DR5 на внешней мембране клеток (Guo et al., 2017; Martin-Perez, Niwa, Lopez-Rivas, 2012). Ингибитор гистондеацетилаз SAHA катализирует деацетилирование гистонов и

негистоновых белков, тем самым регулируя экспрессию генов, участвующих во многих клеточных процессах, включая индукцию повышения экспрессии DR5 у лейкозных клеток (Nakata et al., 2004; Cao et al., 2013; Mohammad Mirzapour et al., 2023; Schöler et al., 2010). Соединение ONC201 (TIC10) представляет собой малую молекулу, которая действует как селективный антагонист дофаминового рецептора D2 рецептора (DRD2), связанного с G-белком (GPCR), и как аллостерический агонист казеинолитической митохондриальной протеазы Р (ClpP). После взаимодействия с мишенью ONC201 активирует реакцию опосредованную ATF4/CHOP, что приводит к увеличению экспрессии DR5, с-Мус зависимому ингибированию окислительного фосфорилирования и инактивации протеинкиназ Akt/ERK в опухолевых клетках (Prabhu et al., 2020; Allen, Crowder, El-Deiry, 2015; Ishizawa et al., 2016; Kline et al., 2016).

Клетки THP-1ad предварительно инкубировали с нетоксичными концентрациями ONC201 (100 μ M), туникамицина (1 μ M) или SAHA (33 μ M) в течение 24 часов, после чего к клеткам добавляли 150 нг/мл izTRAIL еще на 24 часа. Было показано, что предварительная инкубация клеток THP-1ad с туникамицином и SAHA снижала количество TRAIL-резистентных клеток до $25\pm3\%$ и $19\pm4\%$, соответственно. При предварительной инкубации клеток с ONC201 количество TRAIL-резистентных клеток снижалось незначительно, до $71\pm2\%$ (Рис. 30А).

Далее было проведено исследование влияния препаратов ONC201, туникамицина и SAHA на количество DR-позитивных и DR-негативных клеток THP-1ad. Было показано, что инкубация клеток THP-1ad с туникамицином и SAHA приводила к увеличению числа DR4-/DR5+ клеток до $60\pm5\%$ и $75\pm3\%$, а также снижению количества DR4-/DR5- клеток, до $25\pm2\%$ и $15\pm1\%$, соответственно. В случае с применением препарата ONC201, было показано достоверное ($p<0,05$), но незначительное снижение количества только DR4-/DR5- клеток до $37\pm1\%$ (Рис. 30Б). Дополнительно при исследовании поверхностной экспрессии проапоптотического TRAIL-рецептора DR5 с помощью оценки интенсивности флуоресценции клеток THP-1ad, окрашенных антителами против DR5, было показано, что инкубация клеток с туникамицином и SAHA, но не с препаратом ONC201, приводила к увеличению поверхностной экспрессии проапоптотического рецептора DR5 (Рис. 30В)

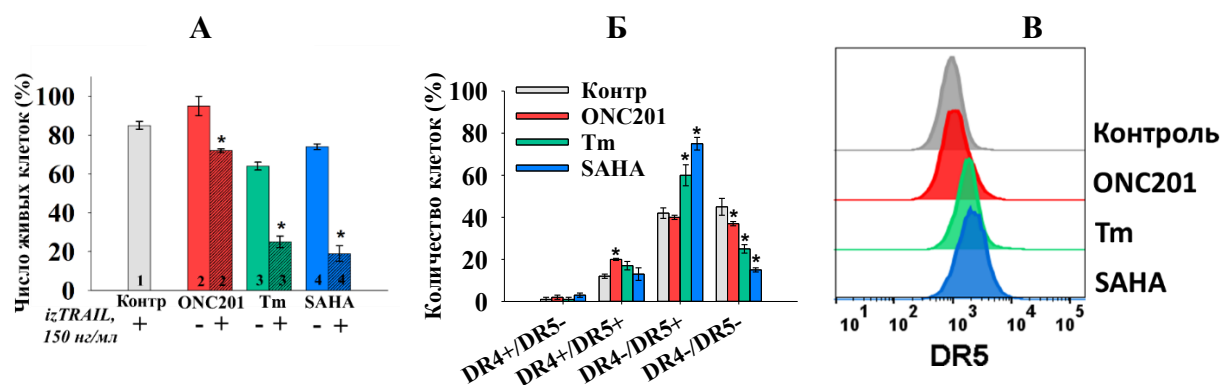


Рисунок 30. Оценка цитотоксического действия izTRAIL на клетки THP-1ad совместно с ONC201, туникамицином (Tm) и SAHA (А). Оценка количества DR-позитивных и DR-негативных клеток THP-1ad после инкубации с ONC201, туникамицином (Tm) и SAHA (Б). Гистограммы интенсивности флуоресценции клеток THP-1ad, окрашенных антителами против DR5, отражающие поверхностную экспрессию данного рецептора, после инкубации с ONC201, туникамицином (Tm) и SAHA (В). Данные приведены в виде среднего значения $\pm$ SD, ($n \geq 5$). * - $p < 0,05$ в сравнении с соответствующими контрольными клетками.

Таким образом, полученные результаты указывают на то, что применение в нетоксических концентрациях препаратов, увеличивающих поверхностную экспрессию проапоптотического TRAIL-рецептора DR5, таких как туникамицин и субероиланилид гидроксамовой кислоты, может подавлять устойчивость макрофагоподобных клеток ОМЛ THP-1ad к TRAIL-индуцированной гибели.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В последнее время всё большее количество исследований посвящено изучению влияния условий микроокружения на жизнедеятельность злокачественно-трансформированных клеток. Воспалительное микроокружение, как неотъемлемый критерий опухолевого роста, играет одну из ключевых ролей как в прогрессии опухоли, так и в повышении устойчивости злокачественно-трансформированных клеток к противоопухолевому иммунитету. С другой стороны, воспалительная активация может усиливать противоопухолевый иммунный ответ, запуская дифференцировку и активацию лейкоцитов в опухолевом окружении.

В случае острого миелоидного лейкоза известно, что это гетерогенная опухоль гемопоэтической системы, состоящая из миелоидных клеток в основном гранулоцитарного и моноцитарного ростка разной степени зрелости, то есть разной степени дифференцировки. Остается открытым вопрос, может ли воспалительное микроокружение приводит к дифференцировке клеток ОМЛ, хотя бы к частичной? Подобные частично дифференцированные лейкозные клетки потенциально могут «мимикрировать» под нормальные лейкоциты, тем самым избегать противоопухолевого иммунологического надзора и давать устойчивые уже резистентные к действию противоопухолевых эффекторов клоны. Цитокин TRAIL, продуцируемый Т-, NK- и дендритными клетками, является ключевым молекулярным эффектором противоопухолевого иммунитета, элиминирующим злокачественно-трансформированные клетки. Соответственно, возникновение устойчивости к нему может лежать в основе опухолевой прогрессии. Поэтому в работе была проведена оценка возможности дифференцировки клеток ОМЛ в условиях «стерильного», безинфекционного, воспалительного микроокружения и изучение устойчивости таких клеток к TRAIL-индуцированной гибели.

Результаты работы показали, что в модельных условиях *in vitro*, имитирующих микроокружение лейкозных клеток при «стерильном» хроническом воспалении, может индуцироваться дифференцировка, в данном конкретном случае, макрофагальная. Однако такие дифференцированные макрофагоподобные клетки ОМЛ, на примере полученных в работе клеток THP-1ad, в отличие от нормальных макрофагов сохраняют пролиферативную активность родительских недифференцированных бластных лейкозных клеток и, при этом, приобретают резистентность к основному молекулярному эффектору противоопухолевого иммунитета - цитокину TRAIL, как это происходит при миелоидной дифференцировке. Для таких макрофагоподобных клеток ОМЛ характерна конститутивная активация

провоспалительных сигнальных путей, находящихся под контролем транскрипционных факторов, таких как NF- κ B, AP-1, STAT и IRF.

На рисунке 31 представлен гипотетический механизм повышения устойчивости дифференцированных макрофагоподобных клеток ОМЛ к TRAIL-индуцированной гибели, сформулированный на основе полученных в работе данных. Механизм повышения резистентности к TRAIL-индуцированной гибели у макрофагоподобных клеток ОМЛ THP-1ad связан, как мы полагаем, с подавлением поверхностной экспрессии проапоптотических TRAIL-рецепторов TRAIL-R1 (DR4) и TRAIL-R2 (DR5), а также с повышением экспрессии внутриклеточного ингибитора эффекторных каспаз BIRC3 (cIAP2). Полученные результаты указывают на то, что в качестве потенциального регулятора устойчивости к TRAIL-индуцированной гибели у таких макрофагоподобных клеток ОМЛ может выступать интерлейкин 1 β (IL1B), который является одним из основных интеграторов сигналов провоспалительной активации и NF- κ B-зависимого контроля поверхностной экспрессии рецепторов DR4 и DR5.



Рисунок 31. Схема повышения устойчивости дифференцированных макрофагоподобных клеток ОМЛ THP-1ad к TRAIL-индуцированной гибели.

В свою очередь, снижение TRAIL-резистентности макрофагоподобных клеток ОМЛ THP-1ad может быть достигнуто через индукцию поверхностной экспрессии проапоптотического рецептора DR5 с помощью туникамина и субериоланилида гидроксамовой кислоты, что актуально для разработки новых стратегий повышения чувствительности более зрелых клеток ОМЛ к TRAIL-индуцированной гибели, как к компоненту противоопухолевого надзора или как к иммунотерапевтическому препарату.

Полученные данные интересны и важны не только с точки зрения клеточной биологии для понимания фундаментальных основ дифференцировки клеток, но также и с

точки зрения патофизиологии для понимания механизмов воздействия патологического микроокружения на функционирование злокачественно-трансформированных клеток. С практической точки зрения полученные результаты показывают не только вероятность возникновения более злокачественных клонов, устойчивых к эффекторам противоопухолевого иммунитета в патологически-измененных условиях микроокружения клеток ОМЛ, но и потенциальную возможность направленной фармакологической коррекции данных процессов.

ВЫВОДЫ

1. В долговременной трехмерной культуре клеток ОМЛ высокой плотности, имитирующей условия провоспалительного микроокружения, происходит образование дифференцированных TRAIL-резистентных макрофагоподобных клеток.

2. Резистентность дифференцированных макрофагоподобных клеток ОМЛ к TRAIL-индуцированной гибели опосредована подавлением экспрессии проапоптотических рецепторов DR4 и DR5 и повышением экспрессии ингибитора каспаз cIAP2.

3. Формирование TRAIL-резистентности дифференцированных макрофагоподобных клеток ОМЛ реализуется при участии ИЛ-1 β -опосредованной активации провоспалительных сигнальных путей.

4. Резистентность дифференцированных макрофагоподобных клеток ОМЛ к TRAIL-индуцированной гибели может быть снижена с помощью низкомолекулярных индукторов экспрессии проапоптотических TRAIL-рецепторов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Abdulghani J. Sorafenib sensitizes solid tumors to Apo2L/TRAIL and Apo2L/TRAIL receptor agonist antibodies by the Jak2-Stat3-Mcl1 axis / J. Abdulghani, J. E. Allen, D. T. Dicker, Y. Y. Liu, D. Goldenberg, C. D. Smith, R. Humphreys, W. S. El-Deiry // PLoS One. – 2013. – Vol. 8. – № 9. – P. e75414.
2. Ahmad F. Lysosomal oxidation of LDL alters lysosomal pH, induces senescence, and increases secretion of pro-inflammatory cytokines in human macrophages / F. Ahmad, D. S. Leake // Journal of Lipid Research. – 2019. – Vol. 60. – № 1. – P. 98–110.
3. Akazawa Y. Death receptor 5 internalization is required for lysosomal permeabilization by TRAIL in malignant liver cell lines / Y. Akazawa, J. L. Mott, S. F. Bronk, N. W. Werneburg, A. Kahraman, M. E. Guicciardi, X. W. Meng, S. Kohno, V. H. Shah, S. H. Kaufmann, M. A. McNiven, G. J. Gores // Gastroenterology. – 2009. – Vol. 136. – № 7. – P. 2365-2376 e1–7.
4. Alizadeh Zeinabad H. TRAIL in the Treatment of Cancer: From Soluble Cytokine to Nanosystems / H. Alizadeh Zeinabad, E. Szegezdi // Cancers. – 2022. – Vol. 14. – TRAIL in the Treatment of Cancer. – № 20. – P. 5125.
5. Allen J. E. First-In-Class Small Molecule ONC201 Induces DR5 and Cell Death in Tumor but Not Normal Cells to Provide a Wide Therapeutic Index as an Anti-Cancer Agent / J. E. Allen, R. Crowder, W. S. El-Deiry // PLOS ONE. – 2015. – Vol. 10. – № 11. – P. e0143082.
169. Andrés-Sánchez N. Physiological functions and roles in cancer of the proliferation marker Ki-67 / N. Andrés-Sánchez, D. Fisher, L. Krasinska // Journal of Cell Science. – 2022. – Vol. 135. – № 11. – P. jcs258932.
6. Aoudjit F. Integrin signaling in cancer cell survival and chemoresistance / F. Aoudjit, K. Vuori // Chemother Res Pract. – 2012. – Vol. 2012. – P. 283181.
7. Arber D. A. Prognostic Impact of Acute Myeloid Leukemia Classification: Importance of Detection of Recurring Cytogenetic Abnormalities and Multilineage Dysplasia on Survival / D. A. Arber, A. S. Stein, N. H. Carter, D. Ikle, S. J. Forman, M. L. Slovak // American Journal of Clinical Pathology. – 2003. – Vol. 119. – № 5. – P. 672–680.
8. Arranz L. Interleukin-1 β as emerging therapeutic target in hematological malignancies and potentially in their complications / L. Arranz, M. D. M. Arriero, A. Villatoro // Blood Reviews. – 2017. – Vol. 31. – № 5. – P. 306–317.
9. Artykov A. A. Death Receptors DR4 and DR5 Undergo Spontaneous and Ligand-Mediated Endocytosis and Recycling Regardless of the Sensitivity of Cancer Cells to TRAIL / A. A. Artykov, A. V. Yagolovich, D. A. Dolgikh, M. P. Kirpichnikov, D. B. Trushina, M. E. Gasparian. Frontiers in Cell and Developmental Biology 2021. Vol. 9. P. 733688.
10. Ashlin T. G. Regulation of ADAMTS-1, -4 and -5 expression in human macrophages: differential regulation by key cytokines implicated in atherosclerosis and novel synergism between TL1A and IL-17 / T. G. Ashlin, A. P. Kwan, D. P. Ramji // Cytokine. – 2013. – Vol. 64. – № 1. – P. 234–42.
11. Austin C. D. Death-receptor activation halts clathrin-dependent endocytosis / C. D. Austin, D. A. Lawrence, A. A. Peden, E. E. Varfolomeev, K. Totpal, A. M. De Mazière, J. Klumperman,

- D. Arnott, V. Pham, R. H. Scheller, A. Ashkenazi // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2006. – Vol. 103. – № 27. – P. 10283–10288.
12. Azijli K. Non-canonical kinase signaling by the death ligand TRAIL in cancer cells: discord in the death receptor family / K. Azijli, B. Weyhenmeyer, G. J. Peters, S. de Jong, F. A. Kruyt // *Cell Death Differ.* – 2013. – Vol. 20. – № 7. – P. 858–68.
 13. Baritaki S. Inhibition of Yin Yang 1-dependent repressor activity of DR5 transcription and expression by the novel proteasome inhibitor NPI-0052 contributes to its TRAIL-enhanced apoptosis in cancer cells / S. Baritaki, E. Suzuki, K. Umezawa, D. A. Spandidos, J. Berenson, T. R. Daniels, M. L. Penichet, A. R. Jazirehi, M. Palladino, B. Bonavida // *J Immunol.* – 2008. – Vol. 180. – № 9. – P. 6199–210.
 14. Bae S. MYC-mediated early glycolysis negatively regulates proinflammatory responses by controlling IRF4 in inflammatory macrophages / S. Bae, P. S. U. Park, Y. Lee, S. H. Mun, E. Giannopoulou, T. Fujii, K. P. Lee, S. N. Violante, J. R. Cross, K.-H. Park-Min // *Cell Reports.* – 2021. – Vol. 35. – № 11. – P. 109264.
 15. Benjamini Y. Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing / Y. Benjamini, Y. Hochberg // *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological).* – 1995. – Vol. 57. – № 1. – P. 289–300.
 16. Bharadwaj M. α V-class integrins exert dual roles on α 5 β 1 integrins to strengthen adhesion to fibronectin / M. Bharadwaj, N. Strohmeyer, G. P. Colo, J. Helenius, N. Beerenwinkel, H. B. Schiller, R. Fässler, D. J. Müller // *Nature Communications.* – 2017. – Vol. 8. – № 1. – P. 14348.
 17. Bhat M. Y. Comprehensive network map of interferon gamma signaling / M. Y. Bhat, H. S. Solanki, J. Advani, A. A. Khan, T. S. Keshava Prasad, H. Gowda, S. Thiyagarajan, A. Chatterjee // *Journal of Cell Communication and Signaling.* – 2018. – Vol. 12. – № 4. – P. 745–751.
 18. Bhattacharya A. 3D micro-environment regulates NF- κ B dependent adhesion to induce monocyte differentiation / A. Bhattacharya, M. Agarwal, R. Mukherjee, P. Sen, D. K. Sinha // *Cell Death & Disease.* – 2018. – Vol. 9. – № 9. – P. 914.
 19. Bosman M. C. J. Constitutive NF- κ B activation in AML: Causes and treatment strategies / M. C. J. Bosman, J. J. Schuringa, E. Vellenga // *Critical Reviews in Oncology/Hematology.* – 2016. – Vol. 98. – P. 35–44.
 20. Bottomly D. Integrative analysis of drug response and clinical outcome in acute myeloid leukemia / D. Bottomly, N. Long, A. R. Schultz, S. E. Kurtz, C. E. Tognon, K. Johnson, M. Abel, A. Agarwal, S. Avaylon, E. Benton, A. Blucher, J. W. Tyner et al. // *Cancer Cell.* – 2022. – Vol. 40. – № 8. – P. 850–864.e9.
 21. Boyd A. L. Identification of Chemotherapy-Induced Leukemic-Regenerating Cells Reveals a Transient Vulnerability of Human AML Recurrence / A. L. Boyd, L. Aslostovar, J. Reid, W. Ye, B. Tanasijevic, D. P. Porras, Z. Shapovalova, M. Almakadi, R. Foley, B. Leber, A. Xenocostas, M. Bhatia // *Cancer Cell.* – 2018. – Vol. 34. – № 3. – P. 483–498 e5.
 22. Boyette L. B. Phenotype, function, and differentiation potential of human monocyte subsets / L. B. Boyette, C. Macedo, K. Hadi, B. D. Elinoff, J. T. Walters, B. Ramaswami, G. Chalasani, J. M. Taboas, F. G. Lakkis, D. M. Metes // *PLOS ONE.* – 2017. – Vol. 12. – № 4. – P. e0176460.

23. Braun T. P. Myeloid lineage enhancers drive oncogene synergy in CEBPA/CSF3R mutant acute myeloid leukemia / T. P. Braun, M. Okhovat, C. Coblenz, S. A. Carratt, A. Foley, Z. Schonrock, B. M. Smith, K. Nevenon, B. Davis, B. Garcia, D. LaTocha, B. R. Weeder, M. R. Grzadkowski, J. C. Estabrook, H. G. Manning, K. Watanabe-Smith, S. Jeng, J. L. Smith, A. R. Leonti, R. E. Ries, S. McWeeney, C. Di Genua, R. Drissen, C. Nerlov, S. Meshinchi, L. Carbone, B. J. Druker, J. E. Maxson // *Nat Commun.* – 2019. – Vol. 10. – № 1. – P. 5455.
24. Brilha S. Monocyte Adhesion, Migration, and Extracellular Matrix Breakdown Are Regulated by Integrin $\alpha V\beta 3$ in *Mycobacterium tuberculosis* Infection / S. Brilha, R. Wysoczanski, A. M. Whittington, J. S. Friedland, J. C. Porter // *The Journal of Immunology.* – 2017. – Vol. 199. – № 3. – P. 982–991.
25. Campidelli C. Myeloid Sarcoma / C. Campidelli, C. Agostinelli, R. Stitson, S. A. Pileri // *American Journal of Clinical Pathology.* – 2009. – Vol. 132. – № 3. – P. 426–437.
26. Canton M. Reactive Oxygen Species in Macrophages: Sources and Targets / M. Canton, R. Sánchez-Rodríguez, I. Spera, F. C. Venegas, M. Favia, A. Viola, A. Castegna // *Frontiers in Immunology.* – 2021. – Vol. 12. – P. 734229.
27. Cao H. Homoharringtonine and SAHA synergistically enhance apoptosis in human acute myeloid leukemia cells through upregulation of TRAIL and death receptors / H. Cao, Y. Cheng, L. You, J. Qian, W. Qian // *Molecular Medicine Reports.* – 2013. – Vol. 7. – № 6. – P. 1838–1844.
28. Capes-Davis A. Match criteria for human cell line authentication: Where do we draw the line? / A. Capes-Davis, Y. A. Reid, M. C. Kline, D. R. Storts, E. Strauss, W. G. Dirks, H. G. Drexler, R. A. F. MacLeod, G. Sykes, A. Kohara, Y. Nakamura, E. Elmore, R. W. Nims, C. Alston-Roberts, R. Barallon, G. V. Los, R. M. Nardone, P. J. Price, A. Steuer, J. Thomson, J. R. W. Masters, L. Kerrigan // *International Journal of Cancer.* – 2013. – Vol. 132. – № 11. – P. 2510–2519.
29. Chanput W. THP-1 cell line: An in vitro cell model for immune modulation approach / W. Chanput, J. J. Mes, H. J. Wichers // *International Immunopharmacology.* – 2014. – Vol. 23. – THP-1 cell line. – № 1. – P. 37–45.
30. Chawla S. P. A randomized, placebo-controlled, phase 2 trial of INBRX-109 in unresectable or metastatic conventional chondrosarcoma. / S. P. Chawla, G. T. Wasp, D. R. Shepard, J.-Y. Blay, R. L. Jones, S. Stacchiotti, P. Reichardt, H. Gelderblom, J. Martin-Broto, B. Eckelman, M. Darling, V. Andrianov, A. P. Conley // *Journal of Clinical Oncology.* – 2022. – Vol. 40. – № 16_suppl. – P. TPS11582–TPS11582.
31. Chen J. J. H-Ras regulation of TRAIL death receptor mediated apoptosis / J. J. Chen, W. P. Bozza, X. Di, Y. Zhang, W. Hallett, B. Zhang // *Oncotarget.* – 2014. – Vol. 5. – № 13. – P. 5125–37.
32. Chen J. J. Mislocalization of death receptors correlates with cellular resistance to their cognate ligands in human breast cancer cells / J. J. Chen, H. C. Shen, L. A. Rivera Rosado, Y. Zhang, X. Di, B. Zhang // *Oncotarget.* – 2012. – Vol. 3. – № 8. – P. 833–42.
33. Chen Y. The Critical Role of PTEN/PI3K/AKT Signaling Pathway in Shikonin-Induced Apoptosis and Proliferation Inhibition of Chronic Myeloid Leukemia / Y. Chen, T. Wang, J. Du, Y. Li, X. Wang, Y. Zhou, X. Yu, W. Fan, Q. Zhu, X. Tong, Y. Wang // *Cell Physiol Biochem.* – 2018. – Vol. 47. – № 3. – P. 981–993.

34. Chin C.-H. cytoHubba: identifying hub objects and sub-networks from complex interactome / C.-H. Chin, S.-H. Chen, H.-H. Wu, C.-W. Ho, M.-T. Ko, C.-Y. Lin // *BMC Systems Biology*. – 2014. – Vol. 8. – cytoHubba. – № S4. – P. S11.
35. Chou J. Metalloproteinases: a Functional Pathway for Myeloid Cells / J. Chou, M. F. Chan, Z. Werb // *Microbiology Spectrum*. – 2016. – Vol. 4. – Metalloproteinases. – № 2. – P. 4.2.18.
36. Cook E. K. Clonal hematopoiesis and inflammation: Partners in leukemogenesis and comorbidity / E. K. Cook, M. Luo, M. J. Rauh // *Experimental Hematology*. – 2020. – Vol. 83. – P. 85–94.
37. Corces M. R. Lineage-specific and single-cell chromatin accessibility charts human hematopoiesis and leukemia evolution / M. R. Corces, J. D. Buenrostro, B. Wu, P. G. Greenside, S. M. Chan, J. L. Koenig, M. P. Snyder, J. K. Pritchard, A. Kundaje, W. J. Greenleaf, R. Majeti, H. Y. Chang // *Nat Genet*. – 2016. – Vol. 48. – № 10. – P. 1193–203.
38. Cornelissen J. J. Hematopoietic stem cell transplantation for patients with AML in first complete remission / J. J. Cornelissen, D. Blaise // *Blood*. – 2016. – Vol. 127. – № 1. – P. 62–70.
39. Cortes J. E. Long-term bosutinib for chronic phase chronic myeloid leukemia after failure of imatinib plus dasatinib and/or nilotinib / J. E. Cortes, H. J. Khoury, H. M. Kantarjian, J. H. Lipton, D. Kim, P. Schafhausen, E. Matczak, E. Leip, K. Noonan, T. H. Brümmendorf, C. Gambacorti-Passerini // *American Journal of Hematology*. – 2016. – Vol. 91. – № 12. – P. 1206–1214.
40. Daigneault M. The identification of markers of macrophage differentiation in PMA-stimulated THP-1 cells and monocyte-derived macrophages / M. Daigneault, J. A. Preston, H. M. Marriott, M. K. Whyte, D. H. Dockrell // *PLoS One*. – 2010. – Vol. 5. – № 1. – P. e8668.
41. Delgado-Ramirez Y. STAT6 Is Critical for the Induction of Regulatory T Cells In Vivo Controlling the Initial Steps of Colitis-Associated Cancer / Y. Delgado-Ramirez, A. Ocaña-Soriano, Y. Ledesma-Soto, J. E. Olguín, J. Hernandez-Ruiz, L. I. Terrazas, S. Leon-Cabrera // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – Vol. 22. – № 8. – P. 4049.
42. Deng D. TRAIL of Hope Meeting Resistance in Cancer / D. Deng, K. Shah // *Trends Cancer*. – 2020. – Vol. 6. – № 12. – P. 989–1001.
43. Di Cristofano F. Therapeutic targeting of TRAIL death receptors / F. Di Cristofano, A. George, V. Tajiknia, M. Ghandali, L. Wu, Y. Zhang, P. Srinivasan, J. Strandberg, M. Hahn, A. Sanchez Sevilla Uruchurtu, A. A. Seyhan, B. A. Carneiro, L. Zhou, K. E. Huntington, W. S. El-Deiry // *Biochemical Society Transactions*. – 2023. – Vol. 51. – № 1. – P. 57–70.
44. Di Francesco B. NF-κB: A Druggable Target in Acute Myeloid Leukemia / B. Di Francesco, D. Verzella, D. Capece, D. Vecchiotti, M. Di Vito Nolfi, I. Flati, J. Cornice, M. Di Padova, A. Angelucci, E. Alesse, F. Zazzeroni // *Cancers*. – 2022. – Vol. 14. – NF-κB. – № 14. – P. 3557.
45. Di Tullio A. The combination of CHK1 inhibitor with G-CSF overrides cytarabine resistance in human acute myeloid leukemia / A. Di Tullio, K. Rouault-Pierre, A. Abarrategi, S. Mian, W. Grey, J. Gribben, A. Stewart, E. Blackwood, D. Bonnet // *Nature Communications*. – 2017. – Vol. 8. – № 1. – P. 1679.

46. Di X. Accumulation of autophagosomes in breast cancer cells induces TRAIL resistance through downregulation of surface expression of death receptors 4 and 5 / X. Di, G. Zhang, Y. Zhang, K. Takeda, L. A. Rivera Rosado, B. Zhang // *Oncotarget*. – 2013. – Vol. 4. – № 9. – P. 1349–64.
47. Digiacomo G. Fibronectin induces macrophage migration through a SFK-FAK/CSF-1R pathway / G. Digiacomo, I. Tusa, M. Bacci, M. G. Cipolleschi, P. Dello Sbarba, E. Rovida // *Cell Adhesion & Migration*. – 2017. – Vol. 11. – № 4. – P. 327–337.
48. DiNardo C. D. Durable Remissions with Ivosidenib in IDH1-Mutated Relapsed or Refractory AML / C. D. DiNardo, E. M. Stein, S. de Botton, G. J. Roboz, J. K. Altman, A. S. Mims, R. Swords, R. H. Collins, G. N. Mannis, D. A. Pollyea, W. Donnellan, A. T. Fathi, A. Pigneux, H. P. Erba, G. T. Prince, A. S. Stein, G. L. Uy, J. M. Foran, E. Traer, R. K. Stuart, M. L. Arellano, J. L. Slack, M. A. Sekeres, C. Willekens, S. Choe, H. Wang, V. Zhang, K. E. Yen, S. M. Kapsalis, H. Yang, D. Dai, B. Fan, M. Goldwasser, H. Liu, S. Agresta, B. Wu, E. C. Attar, M. S. Tallman, R. M. Stone, H. M. Kantarjian // *N Engl J Med*. – 2018. – Vol. 378. – № 25. – P. 2386–2398.
49. Ding L. Clonal evolution in relapsed acute myeloid leukaemia revealed by whole-genome sequencing / L. Ding, T. J. Ley, D. E. Larson, C. A. Miller, D. C. Koboldt, J. S. Welch, J. K. Ritchey, M. A. Young, T. Lamprecht, M. D. McLellan, J. F. McMichael, J. W. Wallis, C. Lu, D. Shen, C. C. Harris, D. J. Dooling, R. S. Fulton, L. L. Fulton, K. Chen, H. Schmidt, J. Kalicki-Veizer, V. J. Magrini, L. Cook, S. D. McGrath, T. L. Vickery, M. C. Wendl, S. Heath, M. A. Watson, D. C. Link, M. H. Tomasson, W. D. Shannon, J. E. Payton, S. Kulkarni, P. Westervelt, M. J. Walter, T. A. Graubert, E. R. Mardis, R. K. Wilson, J. F. DiPersio // *Nature*. – 2012. – Vol. 481. – № 7382. – P. 506–10.
50. Ding L. Cisplatin restores TRAIL apoptotic pathway in glioblastoma-derived stem cells through up-regulation of DR5 and down-regulation of c-FLIP / L. Ding, C. Yuan, F. Wei, G. Wang, J. Zhang, A. C. Bellail, Z. Zhang, J. J. Olson, C. Hao // *Cancer Invest*. – 2011. – Vol. 29. – № 8. – P. 511–20.
51. Döhner H. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel / H. Döhner, E. Estey, D. Grimwade, S. Amadori, F. R. Appelbaum, T. Büchner, H. Dombret, B. L. Ebert, P. Fenaux, R. A. Larson, R. L. Levine, F. Lo-Coco, T. Naoe, D. Niederwieser, G. J. Ossenkoppele, M. Sanz, J. Sierra, M. S. Tallman, H.-F. Tien, A. H. Wei, B. Löwenberg, C. D. Bloomfield // *Blood*. – 2017. – Vol. 129. – № 4. – P. 424–447.
52. Dong M. Role of transforming growth factor- β in hematologic malignancies / M. Dong, G. C. Blobe // *Blood*. – 2006. – Vol. 107. – № 12. – P. 4589–4596.
53. Dubuisson A. Antibodies and Derivatives Targeting DR4 and DR5 for Cancer Therapy / A. Dubuisson, O. Micheau // *Antibodies (Basel)*. – 2017. – Vol. 6. – № 4. – P.16
54. Dufour A. Acute Myeloid Leukemia With Biallelic *CEBPA* Gene Mutations and Normal Karyotype Represents a Distinct Genetic Entity Associated With a Favorable Clinical Outcome / A. Dufour, F. Schneider, K. H. Metzeler, E. Hoster, S. Schneider, E. Zellmeier, T. Benthous, M.-C. Sauerland, W. E. Berdel, T. Büchner, B. Wörmann, J. Braess, W. Hiddemann, S. K. Bohlander, K. Spiekermann // *Journal of Clinical Oncology*. – 2010. – Vol. 28. – № 4. – P. 570–577.
55. Eberle J. Countering TRAIL Resistance in Melanoma / J. Eberle // *Cancers (Basel)*. – 2019. – Vol. 11. – № 5. – P. 656.

56. Ehrlich S. Regulation of soluble and surface-bound TRAIL in human T cells, B cells, and monocytes / S. Ehrlich, C. Infante-Duarte, B. Seeger, F. Zipp // *Cytokine*. – 2003. – Vol. 24. – № 6. – P. 244–53.
57. El Fakih R. Targeting FLT3 Mutations in Acute Myeloid Leukemia / R. El Fakih, W. Rasheed, Y. Hawsawi, M. Alsermani, M. Hassanein // *Cells*. – 2018. – Vol. 7. – № 1. – P. 4.
58. Ellegast J. M. Unleashing Cell-Intrinsic Inflammation as a Strategy to Kill AML Blasts / J. M. Ellegast, G. Alexe, A. Hamze, S. Lin, H. J. Uckelmann, P. J. Rauch, M. Pimkin, L. S. Ross, N. V. Dharia, A. L. Robichaud, A. S. Conway, D. Khalid, J. A. Perry, M. Wunderlich, L. Benajiba, Y. Pikman, B. Nabet, N. S. Gray, S. H. Orkin, K. Stegmaier // *Cancer Discovery*. – 2022. – Vol. 12. – № 7. – P. 1760–1781.
59. Erba H. P. Quizartinib plus chemotherapy in newly diagnosed patients with FLT3-internal-tandem-duplication-positive acute myeloid leukaemia (QuANTUM-First): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial / H. P. Erba, P. Montesinos, H.-J. Kim, E. Patkowska, R. Vrhovac, P. Žák, P.-N. Wang, T. Mitov, J. Hanyok, Y. M. Kamel, J. E. C. Rohrbach, L. Liu, A. Benzohra, A. Lesegretain, J. Cortes, A. E. Perl, M. A. Sekeres, H. Dombret, S. Amadori, J. Wang, M. J. Levis, R. F. Schlenk // *The Lancet*. – 2023. – Vol. 401. – № 10388. – P. 1571–1583.
60. Fadeev R. Improved Anticancer Effect of Recombinant Protein izTRAIL Combined with Sorafenib and Peptide iRGD / R. Fadeev, A. Chekanov, M. Solovieva, O. Bezborodova, E. Nemtsova, N. Dolgikh, I. Fadeeva, A. Senotov, M. Kobyakova, Y. Evstratova, R. Yakubovskaya, V. Akatov // *Int J Mol Sci*. – 2019. – Vol. 20. – № 3. – P. 525.
61. Falschlehner C. TRAIL signalling: decisions between life and death / C. Falschlehner, C. H. Emmerich, B. Gerlach, H. Walczak // *Int J Biochem Cell Biol*. – 2007. – Vol. 39. – № 7–8. – P. 1462–75.
62. Fang F. C. Reactive nitrogen species in host–bacterial interactions / F. C. Fang, A. Vázquez-Torres // *Current Opinion in Immunology*. – 2019. – Vol. 60. – P. 96–102.
63. Fazio C. Inflammation and Notch signaling: a crosstalk with opposite effects on tumorigenesis / C. Fazio, L. Ricciardiello // *Cell Death & Disease*. – 2016. – Vol. 7. – № 12. – P. e2515–e2515.
64. Filiberti S. Self-Renewal of Macrophages: Tumor-Released Factors and Signaling Pathways / S. Filiberti, M. Russo, S. Lonardi, M. Bugatti, W. Vermi, C. Tournier, E. Giurisato // *Biomedicines*. – 2022. – Vol. 10. – № 11. – P. 2709.
65. Forrester M. A. Similarities and differences in surface receptor expression by THP-1 monocytes and differentiated macrophages polarized using seven different conditioning regimens / M. A. Forrester, H. J. Wassall, L. S. Hall, H. Cao, H. M. Wilson, R. N. Barker, M. A. Vickers // *Cell Immunol*. – 2018. – Vol. 332. – P. 58–76.
66. Frafjord A. Antibody combinations for optimized staining of macrophages in human lung tumours / A. Frafjord, R. Skarshaug, C. Hammarström, B. Stankovic, L. T. Dorg, H. Aamodt, P. R. Woldbæk, Å. Helland, O. T. Brustugun, I. Øynebråten, A. Corthay // *Scandinavian Journal of Immunology*. – 2020. – Vol. 92. – № 1. – P. e12889.
67. Fu Y. L. Microbial Phagocytic Receptors and Their Potential Involvement in Cytokine Induction in Macrophages / Y. L. Fu, R. E. Harrison // *Frontiers in Immunology*. – 2021. – Vol. 12. – P. 662063.

68. Gabriele L. IFN- α promotes the rapid differentiation of monocytes from patients with chronic myeloid leukemia into activated dendritic cells tuned to undergo full maturation after LPS treatment / L. Gabriele, P. Borghi, C. Rozera, P. Sestili, M. Andreotti, A. Guarini, E. Montefusco, R. Foà, F. Belardelli // *Blood*. – 2004. – Vol. 103. – № 3. – P. 980–987.
69. Gallenstein N. Notch Signaling in Acute Inflammation and Sepsis / N. Gallenstein, L. Tichy, M. A. Weigand, J. Schenz // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – Vol. 24. – № 4. – P. 3458.
70. Gampa S. C. Nano-TRAIL: a promising path to cancer therapy / S. C. Gampa // *Cancer Drug Resistance*. – 2023. – Vol. 6. – Nano-TRAIL. – № 1. – P. 79–103.
71. Ganapathy S. Resveratrol enhances antitumor activity of TRAIL in prostate cancer xenografts through activation of FOXO transcription factor / S. Ganapathy, Q. Chen, K. P. Singh, S. Shankar, R. K. Srivastava // *PLoS One*. – 2010. – Vol. 5. – № 12. – P. e15627.
72. García-Nicolás O. Macrophage phagocytosis of SARS-CoV-2-infected cells mediates potent plasmacytoid dendritic cell activation / O. García-Nicolás, A. Godel, G. Zimmer, A. Summerfield // *Cellular & Molecular Immunology*. – 2023. – Vol. 20. – № 7. – P. 835–849.
73. Garciaz S. Targeting regulated cell death pathways in acute myeloid leukemia / S. Garciaz, T. Miller, Y. Collette, N. Vey // *Cancer Drug Resistance*. – 2023. – Vol. 6. – № 1. – P. 151–168.
74. Gerlach B. D. Efferocytosis induces macrophage proliferation to help resolve tissue injury / B. D. Gerlach, P. B. Ampomah, A. Yurdagul, C. Liu, M. C. Luring, X. Wang, C. Kasikara, N. Kong, J. Shi, W. Tao, I. Tabas // *Cell Metabolism*. – 2021. – Vol. 33. – № 12. – P. 2445–2463.e8.
75. Ghoshal Gupta S. Epigenetic regulation of signal transducer and activator of transcription 3 in acute myeloid leukemia / S. Ghoshal Gupta, H. Baumann, M. Wetzler // *Leuk Res*. – 2008. – Vol. 32. – № 7. – P. 1005–14.
76. Gils N. van. Escape From Treatment; the Different Faces of Leukemic Stem Cells and Therapy Resistance in Acute Myeloid Leukemia / N. van Gils, F. Denkers, L. Smit // *Front Oncol*. – 2021. – Vol. 11. – P. 659253.
77. Greten F. R. Inflammation and Cancer: Triggers, Mechanisms, and Consequences / F. R. Greten, S. I. Grivnenkov // *Immunity*. – 2019. – Vol. 51. – Inflammation and Cancer. – № 1. – P. 27–41.
78. Guan B. Evidence that the death receptor DR4 is a DNA damage-inducible, p53-regulated gene / B. Guan, P. Yue, G. L. Clayman, S. Y. Sun // *J Cell Physiol*. – 2001. – Vol. 188. – № 1. – P. 98–105.
79. Gunalp S. TRAIL promotes the polarization of human macrophages toward a proinflammatory M1 phenotype and is associated with increased survival in cancer patients with high tumor macrophage content / S. Gunalp, D. G. Helvacı, A. Oner, A. Bursalı, A. Conforte, H. Güner, G. Karakulah, E. Szegezdi, D. Sag // *Frontiers in Immunology*. – 2023. – Vol. 14. – P. 1209249.
80. Guo X. Tunicamycin enhances human colon cancer cells to TRAIL-induced apoptosis by JNK-CHOP-mediated DR5 upregulation and the inhibition of the EGFR pathway / X. Guo, Y. Meng, X. Sheng, Y. Guan, F. Zhang, Z. Han, Y. Kang, G. Tai, Y. Zhou, H. Cheng // *Anticancer Drugs*. – 2017. – Vol. 28. – № 1. – P. 66–74.

81. Guo Y. Abstract 6180: First-in-human (FIH) phase I studies of SCB-313, a novel TNF-related apoptosis-inducing ligand TRAIL-TrimerTM fusion protein, for treatment of patients (pts) with malignant ascites (MA) / Y. Guo, A. Roohullah, J. Xue, W. Zhao, M. Aghmesheh, D. Martin, Y. Zhou, C. Gao, Y. Yang, D.-Z. Xu, J. Li // *Cancer Research*. – 2022. – Vol. 82. – Abstract 6180. – № 12_Supplement. – P. 6180–6180.
82. Gupta V. Allogeneic hematopoietic cell transplantation for adults with acute myeloid leukemia: myths, controversies, and unknowns / V. Gupta, M. S. Tallman, D. J. Weisdorf // *Blood*. – 2011. – Vol. 117. – № 8. – P. 2307–2318.
83. Han J. Involvement of protective autophagy in TRAIL resistance of apoptosis-defective tumor cells / J. Han, W. Hou, L. A. Goldstein, C. Lu, D. B. Stolz, X. M. Yin, H. Rabinowich // *J Biol Chem*. – 2008. – Vol. 283. – № 28. – P. 19665–77.
84. Hao X.-S. Potential mechanisms of leukemia cell resistance to TRAIL-induced apoptosis / X.-S. Hao, J.-H. Hao, F.-T. Liu, A. C. Newland, L. Jia // *Apoptosis*. – 2003. – Vol. 8. – № 6. – P. 601–607.
85. Haselmann V. Nuclear death receptor TRAIL-R2 inhibits maturation of let-7 and promotes proliferation of pancreatic and other tumor cells / V. Haselmann, A. Kurz, U. Bertsch, S. Hubner, M. Olempska-Muller, J. Fritsch, R. Hasler, A. Pickl, H. Fritsche, F. Annewanter, C. Engler, B. Fleig, A. Bernt, C. Roder, H. Schmidt, C. Gelhaus, C. Hauser, J. H. Egberts, C. Heneweer, A. M. Rohde, C. Boger, U. Knippschild, C. Rocken, D. Adam, H. Walczak, S. Schutze, O. Janssen, F. G. Wulczyn, H. Wajant, H. Kalthoff, A. Trauzold // *Gastroenterology*. – 2014. – Vol. 146. – № 1. – P. 278–90.
86. Hassanzadeh A. Kaempferol Improves TRAIL-Mediated Apoptosis in Leukemia MOLT-4 Cells by the Inhibition of Anti-apoptotic Proteins and Promotion of Death Receptors Expression / A. Hassanzadeh, A. Naimi, M. F. Hagh, R. Saraei, F. Marofi, S. Solali // *Anticancer Agents Med Chem*. – 2019. – Vol. 19. – № 15. – P. 1835–1845.
87. Hatem E. Multifaceted Roles of Glutathione and Glutathione-Based Systems in Carcinogenesis and Anticancer Drug Resistance / E. Hatem, N. El Banna, M. E. Huang // *Antioxid Redox Signal*. – 2017. – Vol. 27. – № 15. – P. 1217–1234.
88. Hernandez G. Pro-inflammatory cytokine blockade attenuates myeloid expansion in a murine model of rheumatoid arthritis / G. Hernandez, T. S. Mills, J. L. Rabe, J. S. Chavez, S. Kuldaneek, G. Kirkpatrick, L. Noetzli, W. K. Jubair, M. Zanche, J. R. Myers, B. M. Stevens, C. J. Fleenor, B. Adane, C. A. Dinarello, J. Ashton, C. T. Jordan, J. Di Paola, J. R. Hagman, V. M. Holers, K. A. Kuhn, E. M. Pietras // *Haematologica*. – 2020. – Vol. 105. – № 3. – P. 585–597.
89. Hirano T. IL-6 in inflammation, autoimmunity and cancer / T. Hirano // *International Immunology*. – 2021. – Vol. 33. – № 3. – P. 127–148.
90. Holderfield M. Mechanism and consequences of RAF kinase activation by small-molecule inhibitors / M. Holderfield, T. E. Nagel, D. D. Stuart // *Br J Cancer*. – 2014. – Vol. 111. – № 4. – P. 640–5.
91. Holicek P. Type I interferon signaling in malignant blasts contributes to treatment efficacy in AML patients / P. Holicek, I. Truxova, J. Rakova, C. Salek, M. Hensler, M. Kovar, M. Reinis, R. Mikyskova, J. Pasulka, S. Vosahlikova, H. Remesova, I. Valentova, D. Lysak, M. Holubova, P. Kaspar, J. Prochazka, L. Kasikova, R. Spisek, L. Galluzzi, J. Fucikova // *Cell Death & Disease*. – 2023. – Vol. 14. – № 3. – P. 209.

92. Holland P. M. Death receptor agonist therapies for cancer, which is the right TRAIL? / P. M. Holland // *Cytokine Growth Factor Rev.* – 2014. – Vol. 25. – № 2. – P. 185–93.
93. Huang B. The role of IL-6/JAK2/STAT3 signaling pathway in cancers / B. Huang, X. Lang, X. Li // *Frontiers in Oncology.* – 2022. – Vol. 12. – P. 1023177.
94. Huang Y. Mutant p53 drives cancer chemotherapy resistance due to loss of function on activating transcription of PUMA / Y. Huang, N. Liu, J. Liu, Y. Liu, C. Zhang, S. Long, G. Luo, L. Zhang, Y. Zhang // *Cell Cycle.* – 2019. – Vol. 18. – № 24. – P. 3442–3455.
95. Humphreys L. M. A revised model of TRAIL-R2 DISC assembly explains how FLIP(L) can inhibit or promote apoptosis / L. M. Humphreys, J. P. Fox, C. A. Higgins, J. Majkut, T. Sessler, K. McLaughlin, C. McCann, J. Z. Roberts, N. T. Crawford, S. S. McDade, C. J. Scott, T. Harrison, D. B. Longley // *EMBO Rep.* – 2020. – Vol. 21. – № 3. – P. e49254.
96. Ishizawa J. ATF4 induction through an atypical integrated stress response to ONC201 triggers p53-independent apoptosis in hematological malignancies / J. Ishizawa, K. Kojima, D. Chachad, P. Ruvolo, V. Ruvolo, R. O. Jacamo, G. Borthakur, H. Mu, Z. Zeng, Y. Tabe, J. E. Allen, Z. Wang, W. Ma, H. C. Lee, R. Orłowski, D. D. Sarbassov, P. L. Lorenzi, X. Huang, S. S. Neelapu, T. McDonnell, R. N. Miranda, M. Wang, H. Kantarjian, M. Konopleva, R. Eric. Davis, M. Andreeff // *Science Signaling.* – 2016. – Vol. 9. – № 415. –P. ra17.
97. Isidori A. Genomic profiling and predicting treatment response in acute myeloid leukemia / A. Isidori, F. Loscocco, A. Curti, S. Amadori, G. Visani // *Pharmacogenomics.* – 2019. – Vol. 20. – № 7. – P. 467–470.
98. Isidori A. The role of the immunosuppressive microenvironment in acute myeloid leukemia development and treatment / A. Isidori, V. Salvestrini, M. Ciciarello, F. Loscocco, G. Visani, S. Parisi, M. Lecciso, D. Ocadlikova, L. Rossi, E. Gabucci, C. Clissa, A. Curti // *Expert Rev Hematol.* – 2014. – Vol. 7. – № 6. – P. 807–18.
99. Jabbour E. A randomized phase 2 study of idarubicin and cytarabine with clofarabine or fludarabine in patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia / E. Jabbour, N. J. Short, F. Ravandi, X. Huang, L. Xiao, G. Garcia-Manero, W. Plunkett, V. Gandhi, K. Sasaki, N. Pemmaraju, N. G. Daver, G. Borthakur, N. Jain, M. Konopleva, Z. Estrov, T. M. Kadia, W. G. Wierda, C. D. DiNardo, M. Brandt, S. M. O'Brien, J. E. Cortes, H. Kantarjian // *Cancer.* – 2017. – Vol. 123. – № 22. – P. 4430–4439.
100. Ji Q. Mechanism study of PEGylated polyester and beta-cyclodextrin integrated micelles on drug resistance reversal in MRP1-overexpressed HL60/ADR cells / Q. Ji, L. Qiu // *Colloids Surf B Biointerfaces.* – 2016. – Vol. 144. – P. 203–213.
101. Jin Z. Deficient tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) death receptor transport to the cell surface in human colon cancer cells selected for resistance to TRAIL-induced apoptosis / Z. Jin, E. R. McDonald, D. T. Dicker, W. S. El-Deiry // *J Biol Chem.* – 2004. – Vol. 279. – № 34. – P. 35829–39.
102. Jones C. L. Inhibition of Amino Acid Metabolism Selectively Targets Human Leukemia Stem Cells / C. L. Jones, B. M. Stevens, A. D'Alessandro, J. A. Reisz, R. Culp-Hill, T. Nemkov, S. Pei, N. Khan, B. Adane, H. Ye, A. Krug, D. Reinhold, C. Smith, J. DeGregori, D. A. Pollyea, C. T. Jordan // *Cancer Cell.* – 2018. – Vol. 34. – № 5. – P. 724-740 e4.

103. Jones D. T. Cytotoxic drugs enhance the ex vivo sensitivity of malignant cells from a subset of acute myeloid leukaemia patients to apoptosis induction by tumour necrosis factor receptor-related apoptosis-inducing ligand / D. T. Jones, K. Ganeshaguru, W. A. Mitchell, L. Foroni, R. J. Baker, H. G. Prentice, A. B. Mehta, R. G. Wickremasinghe // *Br J Haematol.* – 2003. – Vol. 121. – № 5. – P. 713–20.
104. Jones C. V. Macrophages and CSF-1: Implications for development and beyond / C. V. Jones, S. D. Ricardo // *Organogenesis.* – 2013. – Vol. 9. – Macrophages and CSF-1. – № 4. – P. 249–260.
105. Jongen-Lavrencic M. Molecular Minimal Residual Disease in Acute Myeloid Leukemia / M. Jongen-Lavrencic, T. Grob, D. Hanekamp, F. G. Kavelaars, A. Al Hinai, A. Zeilemaker, C. A. J. Erpelinck-Verschueren, P. L. Gradowska, R. Meijer, J. Cloos, B. J. Biemond, C. Graux, M. van Marwijk Kooy, M. G. Manz, T. Pabst, J. R. Passweg, V. Havelange, G. J. Ossenkoppele, M. A. Sanders, G. J. Schuurhuis, B. Lowenberg, P. J. M. Valk // *N Engl J Med.* – 2018. – Vol. 378. – № 13. – P. 1189–1199.
106. Jorgovanovic D. Roles of IFN- γ in tumor progression and regression: a review / D. Jorgovanovic, M. Song, L. Wang, Y. Zhang // *Biomarker Research.* – 2020. – Vol. 8. – № 1. – P. 49.
107. Jourdan T. Developmental Role of Macrophage Cannabinoid-1 Receptor Signaling in Type 2 Diabetes / T. Jourdan, G. Szanda, R. Cinar, G. Godlewski, D. J. Holovac, J. K. Park, S. Nicoloso, Y. Shen, J. Liu, A. Z. Rosenberg, Z. Liu, M. P. Czech, G. Kunos // *Diabetes.* – 2017. – Vol. 66. – № 4. – P. 994–1007.
108. Kadia T. M. Phase II Study of Venetoclax Added to Cladribine + Low Dose AraC (LDAC) Alternating with 5-Azacytidine Demonstrates High Rates of Minimal Residual Disease (MRD) Negative Complete Remissions (CR) and Excellent Tolerability in Older Patients with Newly Diagnosed Acute Myeloid Leukemia (AML) / T. M. Kadia, G. Borthakur, N. Pemmaraju, N. Daver, C. D. DiNardo, K. Sasaki, G. C. Issa, M. Ohanian, G. Montalban Bravo, N. J. Short, N. Jain, A. Ferrajoli, K. N. Bhalla, E. Jabbour, R. Kanagal-Shamanna, K. Takahashi, R. Malla, K. Marek, M. Brandt, U. R. Popat, M. Andreeff, J. E. Cortes, G. Garcia-Manero, M. Konopleva, F. Ravandi, H. M. Kantarjian // *Blood.* – 2020. – Vol. 136. – № Supplement 1. – P. 17–19.
109. Kagoya Y. Positive feedback between NF- κ B and TNF- α promotes leukemia-initiating cell capacity / Y. Kagoya, A. Yoshimi, K. Kataoka, M. Nakagawa, K. Kumano, S. Arai, H. Kobayashi, T. Saito, Y. Iwakura, M. Kurokawa // *Journal of Clinical Investigation.* – 2014. – Vol. 124. – № 2. – P. 528–542.
110. Kang Y. J. Paxilline enhances TRAIL-mediated apoptosis of glioma cells via modulation of c-FLIP, survivin and DR5 / Y. J. Kang, I. Y. Kim, E. H. Kim, M. J. Yoon, S. U. Kim, T. K. Kwon, K. S. Choi // *Exp Mol Med.* – 2011. – Vol. 43. – № 1. – P. 24–34.
111. Kannappan R. Gamma-tocotrienol promotes TRAIL-induced apoptosis through reactive oxygen species/extracellular signal-regulated kinase/p53-mediated upregulation of death receptors / R. Kannappan, J. Ravindran, S. Prasad, B. Sung, V. R. Yadav, S. Reuter, M. M. Chaturvedi, B. B. Aggarwal // *Mol Cancer Ther.* – 2010. – Vol. 9. – № 8. – P. 2196–207.
112. Kantarjian H. Acute myeloid leukemia—Major progress over four decades and glimpses into the future / H. Kantarjian // *American Journal of Hematology.* – 2016. – Vol. 91. – № 1. – P. 131–145.

113. Kantarjian H. Acute myeloid leukemia: current progress and future directions / H. Kantarjian, T. Kadia, C. DiNardo, N. Daver, G. Borthakur, E. Jabbour, G. Garcia-Manero, M. Konopleva, F. Ravandi // *Blood Cancer Journal*. – 2021. – Vol. 11. – Acute myeloid leukemia. – № 2. – P. 41.
114. Kanzaki H. Mutations in K-Ras linked to levels of osteoprotegerin and sensitivity to TRAIL-induced cell death in pancreatic ductal adenocarcinoma cells / H. Kanzaki, A. Ohtaki, F. K. Merchant, M. I. Greene, R. Murali // *Exp Mol Pathol*. – 2013. – Vol. 94. – № 2. – P. 372–9.
115. Karpathiou G. STAT6: A review of a signaling pathway implicated in various diseases with a special emphasis in its usefulness in pathology / G. Karpathiou, A. Papoudou-Bai, E. Ferrand, J. M. Dumollard, M. Peoc'h // *Pathology - Research and Practice*. – 2021. – Vol. 223. – STAT6. – P. 153477.
116. Kaufmann S. H. On the TRAIL of a new therapy for leukemia / S. H. Kaufmann, D. P. Steensma // *Leukemia*. – 2005. – Vol. 19. – № 12. – P. 2195–2202.
117. Karstedt S. von. An unexpected turn of fortune: targeting TRAIL-Rs in KRAS-driven cancer / S. von Karstedt, H. Walczak // *Cell Death Discov*. – 2020. – Vol. 6. – P. 14.
118. Ketkar S. Remethylation of Dnmt3a (-/-) hematopoietic cells is associated with partial correction of gene dysregulation and reduced myeloid skewing / S. Ketkar, A. M. Verdoni, A. M. Smith, C. V. Bangert, E. R. Leight, D. Y. Chen, M. K. Brune, N. M. Helton, M. Hooock, D. R. George, C. Fronick, R. S. Fulton, S. M. Ramakrishnan, G. S. Chang, A. A. Petti, D. H. Spencer, C. A. Miller, T. J. Ley // *Proc Natl Acad Sci U S A*. – 2020. – Vol. 117. – № 6. – P. 3123–3134.
119. Kihara R. Comprehensive analysis of genetic alterations and their prognostic impacts in adult acute myeloid leukemia patients / R. Kihara, Y. Nagata, H. Kiyoi, T. Kato, E. Yamamoto, K. Suzuki, F. Chen, N. Asou, S. Ohtake, S. Miyawaki, Y. Miyazaki, T. Sakura, Y. Ozawa, N. Usui, H. Kanamori, T. Kiguchi, K. Imai, N. Uike, F. Kimura, K. Kitamura, C. Nakaseko, M. Onizuka, A. Takeshita, F. Ishida, H. Suzushima, Y. Kato, H. Miwa, Y. Shiraishi, K. Chiba, H. Tanaka, S. Miyano, S. Ogawa, T. Naoe // *Leukemia*. – 2014. – Vol. 28. – № 8. – P. 1586–95.
120. Kikuchi K. Macrophages Switch Their Phenotype by Regulating Maf Expression during Different Phases of Inflammation / K. Kikuchi, M. Iida, N. Ikeda, S. Moriyama, M. Hamada, S. Takahashi, H. Kitamura, T. Watanabe, Y. Hasegawa, K. Hase, T. Fukuhara, H. Sato, E. H. Kobayashi, T. Suzuki, M. Yamamoto, M. Tanaka, K. Asano // *The Journal of Immunology*. – 2018. – Vol. 201. – № 2. – P. 635–651.
121. Kikushige Y. Human Flt3 Is Expressed at the Hematopoietic Stem Cell and the Granulocyte/Macrophage Progenitor Stages to Maintain Cell Survival / Y. Kikushige, G. Yoshimoto, T. Miyamoto, T. Iino, Y. Mori, H. Iwasaki, H. Niiro, K. Takenaka, K. Nagafuji, M. Harada, F. Ishikawa, K. Akashi // *The Journal of Immunology*. – 2008. – Vol. 180. – № 11. – P. 7358–7367.
122. Kim B. Prednisolone suppresses the immunostimulatory effects of 27-hydroxycholesterol / B. Kim, Y. Son, M. Kim, K. Kim // *Experimental and Therapeutic Medicine*. – 2020. – Vol. 19. – № 3 – P. 2335–2342.
123. Kim B.-Y. Diclofenac inhibits 27-hydroxycholesterol-induced inflammation / B.-Y. Kim, Y. Son, S.-K. Eo, Y. C. Park, K. Kim // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 2016. – Vol. 478. – № 3. – P. 1456–1461.

124. Kim J. Y. Capsaicin sensitizes malignant glioma cells to TRAIL-mediated apoptosis via DR5 upregulation and survivin downregulation / J. Y. Kim, E. H. Kim, S. U. Kim, T. K. Kwon, K. S. Choi // *Carcinogenesis*. – 2010. – Vol. 31. – № 3. – P. 367–75.
125. Kim S. Y. c-Cbl shRNA-expressing adenovirus sensitizes TRAIL-induced apoptosis in prostate cancer DU-145 through increases of DR4/5 / S. Y. Kim, J. H. Kim, J. J. Song // *Cancer Gene Ther.* – 2013. – Vol. 20. – № 2. – P. 82–7.
126. Kim Y. K. Differential susceptibility to lipopolysaccharide affects the activation of toll-like-receptor 4 signaling in THP-1 cells and PMA-differentiated THP-1 cells / Y. K. Kim, J. H. Hwang, H. T. Lee // *Innate Immunity*. – 2022. – Vol. 28. – № 3–4. – P. 122–129.
127. Kline C. L. B. ONC201 kills solid tumor cells by triggering an integrated stress response dependent on ATF4 activation by specific eIF2 α kinases / C. L. B. Kline, A. P. J. Van Den Heuvel, J. E. Allen, V. V. Prabhu, D. T. Dicker, W. S. El-Deiry // *Science Signaling*. – 2016. – Vol. 9. – № 415 – P. ra18.
128. Kobyakova M. The Increase in the Drug Resistance of Acute Myeloid Leukemia THP-1 Cells in High-Density Cell Culture Is Associated with Inflammatory-like Activation and Anti-Apoptotic Bcl-2 Proteins / M. Kobyakova, Y. Lomovskaya, A. Senotov, A. Lomovsky, V. Minaychev, I. Fadeeva, D. Shtatnova, K. Krasnov, A. Zvyagina, I. Odinkova, V. Akatov, R. Fadeev // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2022. – Vol. 23. – № 14. – P. 7881.
129. Kohlhaas S. L. Receptor-mediated endocytosis is not required for tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)-induced apoptosis / S. L. Kohlhaas, A. Craxton, X. M. Sun, M. J. Pinkoski, G. M. Cohen // *J Biol Chem*. – 2007. – Vol. 282. – № 17. – P. 12831–41.
130. Kojima Y. Importin beta1 protein-mediated nuclear localization of death receptor 5 (DR5) limits DR5/tumor necrosis factor (TNF)-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)-induced cell death of human tumor cells / Y. Kojima, M. Nakayama, T. Nishina, H. Nakano, M. Koyanagi, K. Takeda, K. Okumura, H. Yagita // *J Biol Chem*. – 2011. – Vol. 286. – № 50. – P. 43383–93.
131. Kopitar-Jerala N. The Role of Interferons in Inflammation and Inflammasome Activation / N. Kopitar-Jerala // *Frontiers in Immunology*. – 2017. – Vol. 8. – P. 873.
132. Kovrigina A. M. A revised 4 edition WHO Classification of Tumors of Hematopoietic and Lymphoid Tissues, 2017: myeloid neoplasms / A. M. Kovrigina // *Arkhiv patologii*. – 2018. – Vol. 80. – № 6. – P. 43.
133. Kulsoom B. Lung resistance-related protein (LRP) predicts favorable therapeutic outcome in Acute Myeloid Leukemia / B. Kulsoom, T. S. Shamsi, N. A. Afsar // *Scientific Reports*. – 2019. – Vol. 9. – № 1. – P. 378.
134. Kumawat A. K. Expression and characterization of $\alpha\text{v}\beta 5$ integrin on intestinal macrophages / A. K. Kumawat, C. Yu, E. A. Mann, A. Schridde, S. C. Finnemann, A. M. Mowat // *European Journal of Immunology*. – 2018. – Vol. 48. – № 7. – P. 1181–1187.
135. Kurita S. GLI3-dependent repression of DR4 mediates hedgehog antagonism of TRAIL-induced apoptosis / S. Kurita, J. L. Mott, L. L. Almada, S. F. Bronk, N. W. Werneburg, S. Y. Sun, L. R. Roberts, M. E. Fernandez-Zapico, G. J. Gores // *Oncogene*. – 2010. – Vol. 29. – № 34. – P. 4848–58.

136. Kurosawa S. Prognostic factors and outcomes of adult patients with acute myeloid leukemia after first relapse / S. Kurosawa, T. Yamaguchi, S. Miyawaki, N. Uchida, T. Sakura, H. Kanamori, K. Usuki, T. Yamashita, Y. Okoshi, H. Shibayama, H. Nakamae, M. Mawatari, K. Hatanaka, K. Sunami, M. Shimoyama, N. Fujishima, Y. Maeda, I. Miura, Y. Takaue, T. Fukuda // *Haematologica*. – 2010. – Vol. 95. – № 11. – P. 1857–1864.
137. Ladikou E. E. Acute Myeloid Leukaemia in Its Niche: the Bone Marrow Microenvironment in Acute Myeloid Leukaemia / E. E. Ladikou, H. Sivaloganathan, A. Pepper, T. Chevassut // *Curr Oncol Rep*. – 2020. – Vol. 22. – № 3. – P. 27.
138. Lai T. H. HDAC Inhibition Induces MicroRNA-182, which Targets RAD51 and Impairs HR Repair to Sensitize Cells to Sapacitabine in Acute Myelogenous Leukemia / T. H. Lai, B. Ewald, A. Zecevic, C. Liu, M. Sulda, D. Papaioannou, R. Garzon, J. S. Blachly, W. Plunkett, D. Sampath // *Clin Cancer Res*. – 2016. – Vol. 22. – № 14. – P. 3537–49.
139. Lainez-Gonzalez D. Understanding the Notch Signaling Pathway in Acute Myeloid Leukemia Stem Cells: From Hematopoiesis to Neoplasia / D. Lainez-Gonzalez, J. Serrano-Lopez, J. M. Alonso-Dominguez // *Cancers (Basel)*. – 2022. – Vol. 14. – № 6. – P. 1459.
140. Lasry A. An inflammatory state remodels the immune microenvironment and improves risk stratification in acute myeloid leukemia / A. Lasry, B. Nadorp, M. Fornerod, D. Nicolet, H. Wu, C. J. Walker, Z. Sun, M. T. Witkowski, A. N. Tikhonova, M. Guillaumot-Ruano, G. Cayan, A. Yeaton, G. Robbins, E. A. Obeng, A. Tsirigos, R. M. Stone, J. C. Byrd, S. Pounds, W. L. Carroll, T. A. Gruber, A.-K. Eisfeld, I. Aifantis // *Nature Cancer*. – 2023. – Vol. 4 – № 1. – P. 27–42.
141. Lee H. Y. c-MYC Drives Breast Cancer Metastasis to the Brain, but Promotes Synthetic Lethality with TRAIL / H. Y. Lee, J. Cha, S. K. Kim, J. H. Park, K. H. Song, P. Kim, M.-Y. Kim // *Molecular Cancer Research*. – 2019. – Vol. 17. – № 2. – P. 544–554.
142. Leithner K. Nuclear and cytoplasmic death receptor 5 as prognostic factors in patients with non-small cell lung cancer treated with chemotherapy / K. Leithner, E. Stacher, R. Wurm, F. Ploner, F. Quehenberger, C. Wohlkoenig, Z. Balint, J. Polachova, A. Olschewski, H. Samonigg, H. H. Popper, H. Olschewski // *Lung Cancer*. – 2009. – Vol. 65. – № 1. – P. 98–104.
143. Lemke J. Getting TRAIL back on track for cancer therapy / J. Lemke, S. von Karstedt, J. Zinngrebe, H. Walczak // *Cell Death Differ*. – 2014. – Vol. 21. – № 9. – P. 1350–64.
144. Levin M. Deciphering molecular mechanisms underlying chemoresistance in relapsed AML patients: towards precision medicine overcoming drug resistance / M. Levin, M. Stark, Y. Ofra, Y. G. Assaraf // *Cancer Cell International*. – 2021. – Vol. 21. – № 1. – P. 53.
145. Levis M. Quizartinib for the treatment of FLT3/ITD acute myeloid leukemia / M. Levis // *Future Oncology*. – 2014. – Vol. 10. – № 9. – P. 1571–1579.
146. Ley T. J. Genomic and epigenomic landscapes of adult de novo acute myeloid leukemia / T. J. Ley, C. Miller, L. Ding, B. J. Raphael, A. J. Mungall, A. Robertson, K. Hoadley, T. J. Triche, P. W. Laird, J. D. Baty, L. L. Fulton, G. Eley et al. // *N Engl J Med*. – 2013. – Vol. 368. – № 22. – P. 2059–74.
147. Li B. Lipid raft involvement in signal transduction in cancer cell survival, cell death and metastasis / B. Li, Y. Qin, X. Yu, X. Xu, W. Yu // *Cell Prolif*. – 2022. – Vol. 55. – № 1. – P. e13167.

148. Li J. Sensitizing leukemia stem cells to NF- κ B inhibitor treatment *in vivo* by inactivation of both TNF and IL-1 signaling / J. Li, A. Volk, J. Zhang, J. Cannova, S. Dai, C. Hao, C. Hu, J. Sun, Y. Xu, W. Wei, P. Breslin, S. Nand, J. Chen, A. Kini, J. Zhu, J. Zhang // *Oncotarget*. – 2017. – Vol. 8. – № 5. – P. 8420–8435.
149. Li X. Reversal of the Apoptotic Resistance of Non-Small-Cell Lung Carcinoma towards TRAIL by Natural Product Toosendanin / X. Li, M. You, Y. J. Liu, L. Ma, P. P. Jin, R. Zhou, Z. X. Zhang, B. Hua, X. J. Ji, X. Y. Cheng, F. Yin, Y. Chen, W. Yin // *Sci Rep*. – 2017. – Vol. 7. – P. 42748.
150. Li Z. Next-generation sequencing reveals clinically actionable molecular markers in myeloid sarcoma / Z. Li, F. Stölzel, K. Onel, M. Sukhanova, M. K. Mirza, K. L. Yap, O. Borinets, R. A. Larson, W. Stock, M. M. Sasaki, L. Joseph, G. Raca // *Leukemia*. – 2015. – Vol. 29. – № 10. – P. 2113–2116.
151. Liang C. Overview of all-trans-retinoic acid (ATRA) and its analogues: Structures, activities, and mechanisms in acute promyelocytic leukaemia / C. Liang, G. Qiao, Y. Liu, L. Tian, N. Hui, J. Li, Y. Ma, H. Li, Q. Zhao, W. Cao, H. Liu, X. Ren // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2021. – Vol. 220. – P. 113451.
152. Liberzon A. Molecular signatures database (MSigDB) 3.0 / A. Liberzon, A. Subramanian, R. Pinchback, H. Thorvaldsdóttir, P. Tamayo, J. P. Mesirov // *Bioinformatics*. – 2011. – Vol. 27. – № 12. – P. 1739–1740.
153. Liguori M. Functional TRAIL receptors in monocytes and tumor-associated macrophages: A possible targeting pathway in the tumor microenvironment / M. Liguori, C. Buracchi, F. Pasqualini, F. Bergomas, S. Pesce, M. Sironi, F. Grizzi, A. Mantovani, C. Belgiovine, P. Allavena // *Oncotarget*. – 2016. – Vol. 7. – № 27. – P. 41662–41676.
154. Lin T. H. Integrin-mediated tyrosine phosphorylation and cytokine message induction in monocytic cells. A possible signaling role for the Syk tyrosine kinase / T. H. Lin, C. Rosales, K. Mondal, J. B. Bolen, S. Haskill, R. L. Juliano // *J Biol Chem*. – 1995. – P. 270. – № 27. – P. 16189–97.
155. Lin X. Omentin-1 Modulates Macrophage Function via Integrin Receptors $\alpha\beta 3$ and $\alpha\beta 5$ and Reverses Plaque Vulnerability in Animal Models of Atherosclerosis / X. Lin, Y. Sun, S. Yang, M. Yu, L. Pan, J. Yang, J. Yang, Q. Shao, J. Liu, Y. Liu, Y. Zhou, Z. Wang // *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. – 2021. – Vol. 8. – P. 757926.
156. Liu G. C. Detachment of esophageal carcinoma cells from extracellular matrix causes relocalization of death receptor 5 and apoptosis / G. C. Liu, J. Zhang, S. G. Liu, R. Gao, Z. F. Long, K. Tao, Y. F. Ma // *World J Gastroenterol*. – 2009. – Vol. 15. – № 7. – P. 836–44.
157. Liu H. The role of integrin $\alpha\beta 3$ in biphasic calcium phosphate ceramics mediated M2 Macrophage polarization and the resultant osteoinduction / H. Liu, Q. Wu, S. Liu, L. Liu, Z. He, Y. Liu, Y. Sun, X. Liu, E. Luo // *Biomaterials*. – 2024. – Vol. 304. – P. 122406.
158. Liu L. Proinflammatory signal suppresses proliferation and shifts macrophage metabolism from Myc-dependent to HIF1 α -dependent / L. Liu, Y. Lu, J. Martinez, Y. Bi, G. Lian, T. Wang, S. Milasta, J. Wang, M. Yang, G. Liu, D. R. Green, R. Wang // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2016. – Vol. 113. – № 6. – P. 1564–1569.

159. Liu T. Optimization of differentiation and transcriptomic profile of THP-1 cells into macrophage by PMA / T. Liu, T. Huang, J. Li, A. Li, C. Li, X. Huang, D. Li, S. Wang, M. Liang // PLOS ONE. – 2023. – Vol. 18. – № 7. – P. e0286056.
160. Liu T. NF- κ B signaling in inflammation / T. Liu, L. Zhang, D. Joo, S.-C. Sun // Signal Transduction and Targeted Therapy. – 2017. – Vol. 2. – № 1. – P. 17023.
161. Liu S. T. Src as the link between inflammation and cancer / S. T. Liu, H. Pham, S. J. Pandol, A. Ptaszniak // Frontiers in Physiology. – 2014. – Vol. 4. – P. 416.
162. Loberg M. A. Sequentially inducible mouse models reveal that Npm1 mutation causes malignant transformation of Dnmt3a-mutant clonal hematopoiesis / M. A. Loberg, R. K. Bell, L. O. Goodwin, E. Eudy, L. A. Miles, J. M. SanMiguel, K. Young, D. E. Bergstrom, R. L. Levine, R. K. Schneider, J. J. Trowbridge // Leukemia. – 2019. – Vol. 33. – № 7. – P. 1635–1649.
163. LoRusso P. Eftozanermin alfa (ABBV-621) monotherapy in patients with previously treated solid tumors: findings of a phase 1, first-in-human study / P. LoRusso, M. J. Ratain, T. Doi, D. W. Rasco, M. J. A. De Jonge, V. Moreno, B. A. Carneiro, L. A. Devriese, A. Petrich, D. Modi, S. Morgan-Lappe, S. Nuthalapati, M. Motwani, M. Dunbar, J. Glasgow, B. C. Medeiros, E. Calvo // Investigational New Drugs. – 2022. – Vol. 40. – № 4. – P. 762–772.
164. Lund M. E. The choice of phorbol 12-myristate 13-acetate differentiation protocol influences the response of THP-1 macrophages to a pro-inflammatory stimulus / M. E. Lund, J. To, B. A. O'Brien, S. Donnelly // Journal of Immunological Methods. – 2016. – Vol. 430. – P. 64–70.
165. Luppi M. Novel Agents for Acute Myeloid Leukemia / M. Luppi, F. Fabbiano, G. Visani, G. Martinelli, A. Venditti // Cancers (Basel). – 2018. – Vol. 10. – № 11 – P. 429.
166. Maltby S. Production and Differentiation of Myeloid Cells Driven by Proinflammatory Cytokines in Response to Acute Pneumovirus Infection in Mice / S. Maltby, N. G. Hansbro, H. L. Tay, J. Stewart, M. Plank, B. Donges, H. F. Rosenberg, P. S. Foster // The Journal of Immunology. – 2014. – Vol. 193. – № 8. – P. 4072–4082.
167. Marconi M. Constitutive localization of DR4 in lipid rafts is mandatory for TRAIL-induced apoptosis in B-cell hematologic malignancies / M. Marconi, B. Ascione, L. Ciarlo, R. Vona, T. Garofalo, M. Sorice, A. M. Gianni, S. L. Locatelli, C. Carlo-Stella, W. Malorni, P. Matarrese // Cell Death Dis. – 2013. – Vol. 4. – № 10. – P. e863.
168. Martin-Perez R. ER stress sensitizes cells to TRAIL through down-regulation of FLIP and Mcl-1 and PERK-dependent up-regulation of TRAIL-R2 / R. Martin-Perez, M. Niwa, A. Lopez-Rivas // Apoptosis. – 2012. – Vol. 17. – № 4. – P. 349–63.
169. Mas-Moruno C. Cilengitide: The First Anti-Angiogenic Small Molecule Drug Candidate. Design, Synthesis and Clinical Evaluation / C. Mas-Moruno, F. Rechenmacher, H. Kessler // Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry. – 2010. – Vol. 10. – № 10. – P. 753–768.
170. Mazurek N. Cell-surface galectin-3 confers resistance to TRAIL by impeding trafficking of death receptors in metastatic colon adenocarcinoma cells / N. Mazurek, J. C. Byrd, Y. Sun, M. Hafley, K. Ramirez, J. Burks, R. S. Bresalier // Cell Death Differ. – 2012. – Vol. 19. – № 3. – P. 523–33.

171. McNerney M. E. Therapy-related myeloid neoplasms: when genetics and environment collide / M. E. McNerney, L. A. Godley, M. M. Le Beau // *Nature Reviews Cancer*. – 2017. – Vol. 17. – № 9. – P. 513–527.
172. Megías-Vericat J. E. Tyrosine kinase inhibitors for acute myeloid leukemia: A step toward disease control? / J. E. Megías-Vericat, O. Ballesta-López, E. Barragán, D. Martínez-Cuadrón, P. Montesinos // *Blood Reviews*. – 2020. – Vol. 44. – P. 100675.
173. Mendoza F. J. Death receptor-4 (DR4) expression is regulated by transcription factor NF-kappaB in response to etoposide treatment / F. J. Mendoza, G. Ishdorj, X. Hu, S. B. Gibson // *Apoptosis*. – 2008. – Vol. 13. – № 6. – P. 756–70.
174. Menter T. Tumor Microenvironment in Acute Myeloid Leukemia: Adjusting Niches / T. Menter, A. Tzankov // *Frontiers in Immunology*. – 2022. – Vol. 13. – P. 811144.
175. Mirandola P. PKCε controls protection against TRAIL in erythroid progenitors / P. Mirandola, G. Gobbi, C. Ponti, I. Sponzilli, L. Cocco, M. Vitale // *Blood*. – 2006. – Vol. 107. – № 2. – P. 508–513.
176. Mohamed M. S. Inhibitors of apoptosis: clinical implications in cancer / M. S. Mohamed, M. K. Bishr, F. M. Almutairi, A. G. Ali // *Apoptosis*. – 2017. – Vol. 22. – № 12. – P. 1487–1509.
177. Mohammad Mirzapour M. Investigating the synergistic potential of TRAIL and SAHA in inducing apoptosis in MOLT-4 cancer cells / M. Mohammad Mirzapour, M. Farshdousti Hagh, F. Marofi, S. Solali, A. Alaei // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 2023. – Vol. 676. – P. 13–20.
178. Molenaar R. J. Wild-type and mutated IDH1/2 enzymes and therapy responses / R. J. Molenaar, J. P. Maciejewski, J. W. Wilmink, C. J. F. van Noorden // *Oncogene*. – 2018. – Vol. 37. – № 15. – P. 1949–1960.
179. Molica M. CD33 Expression and Gentuzumab Ozogamicin in Acute Myeloid Leukemia: Two Sides of the Same Coin / M. Molica, S. Perrone, C. Mazzone, P. Niscola, L. Cesini, E. Abruzzese, P. De Fabritiis // *Cancers*. – 2021. – Vol. 13. – № 13. – P. 3214.
180. Mollinedo F. Lipid rafts as signaling hubs in cancer cell survival/death and invasion: implications in tumor progression and therapy: Thematic Review Series: Biology of Lipid Rafts / F. Mollinedo, C. Gajate // *J Lipid Res*. – 2020. – Vol. 61. – № 5. – P. 611–635.
181. Mon N. N. Interleukin-1β activates focal adhesion kinase and Src to induce matrix metalloproteinase-9 production and invasion of MCF-7 breast cancer cells / N. N. Mon, T. Senga, S. Ito // *Oncology Letters*. – 2017. – Vol. 13. – № 2. – P. 955–960.
182. Monteiro L. D. B. Using flow cytometry for mitochondrial assays / L. D. B. Monteiro, G. G. Davanzo, C. F. De Aguiar, P. M. M. Moraes-Vieira // *MethodsX*. – 2020. – Vol. 7. – P. 100938.
183. Montinaro A. Harnessing TRAIL-induced cell death for cancer therapy: a long walk with thrilling discoveries / A. Montinaro, H. Walczak // *Cell Death & Differentiation*. – 2023. – Vol. 30. – № 2. – P. 237–249.
184. Moon D. O. Verrucarin A sensitizes TRAIL-induced apoptosis via the upregulation of DR5 in an eIF2α/CHOP-dependent manner / D. O. Moon, Y. Asami, H. Long, J. H. Jang, E. Y. Bae, B. Y. Kim, Y. H. Choi, C. H. Kang, J. S. Ahn, G. Y. Kim // *Toxicol In Vitro*. – 2013. – Vol. 27. – № 1. – P. 257–63.

185. Moon D. O. Capsaicin sensitizes TRAIL-induced apoptosis through Sp1-mediated DR5 up-regulation: involvement of Ca(2+) influx / D. O. Moon, C. H. Kang, S. H. Kang, Y. H. Choi, J. W. Hyun, W. Y. Chang, H. K. Kang, Y. S. Koh, Y. H. Maeng, Y. R. Kim, G. Y. Kim // *Toxicol Appl Pharmacol.* – 2012. – Vol. 259. – № 1. – P. 87–95.
186. Moon D. O. Butein sensitizes human hepatoma cells to TRAIL-induced apoptosis via extracellular signal-regulated kinase/Sp1-dependent DR5 upregulation and NF-kappaB inactivation / D. O. Moon, M. O. Kim, Y. H. Choi, G. Y. Kim // *Mol Cancer Ther.* – 2010. – Vol. 9. – № 6. – P. 1583–95.
187. Morita K. Clonal evolution of acute myeloid leukemia revealed by high-throughput single-cell genomics / K. Morita, F. Wang, K. Jahn, T. Hu, T. Tanaka, Y. Sasaki, J. Kuipers, S. Loghavi, S. A. Wang, Y. Yan, K. Furudate, J. Matthews, L. Little, C. Gumbs, J. Zhang, X. Song, E. Thompson, K. P. Patel, C. E. Bueso-Ramos, C. D. DiNardo, F. Ravandi, E. Jabbour, M. Andreeff, J. Cortes, K. Bhalla, G. Garcia-Manero, H. Kantarjian, M. Konopleva, D. Nakada, N. Navin, N. Beerenwinkel, P. A. Futreal, K. Takahashi // *Nat Commun.* – 2020. – Vol. 11. – № 1. – P. 5327.
188. Mouasni S. FADD at the Crossroads between Cancer and Inflammation / S. Mouasni, L. Tourneur // *Trends Immunol.* – 2018. – Vol. 39. – № 12. – P. 1036–1053.
189. Murray R. Z. Cytokine Secretion in Macrophages: SNAREs, Rab, and Membrane Trafficking / R. Z. Murray, J. L. Stow // *Frontiers in Immunology.* – 2014. – Vol. 5. – 538.
190. Mysore V. Monocytes transition to macrophages within the inflamed vasculature via monocyte CCR2 and endothelial TNFR2 / V. Mysore, S. Tahir, K. Furuhashi, J. Arora, F. Rosetti, X. Cullere, P. Yazbeck, M. Sekulic, M. E. Lemieux, S. Raychaudhuri, B. H. Horwitz, T. N. Mayadas // *Journal of Experimental Medicine.* – 2022. – Vol. 219. – № 5. – P. e20210562.
191. Naimi A. Quercetin sensitizes human myeloid leukemia KG-1 cells against TRAIL-induced apoptosis / A. Naimi, A. Entezari, M. F. Hagh, A. Hassanzadeh, R. Saraei, S. Solali // *J Cell Physiol.* – 2019. – Vol. 234. – № 8. – P. 13233–13241.
192. Nakata S. Histone deacetylase inhibitors upregulate death receptor 5/TRAIL-R2 and sensitize apoptosis induced by TRAIL/APO2-L in human malignant tumor cells / S. Nakata, T. Yoshida, M. Horinaka, T. Shiraishi, M. Wakada, T. Sakai // *Oncogene.* – 2004. – Vol. 23. – № 37. – P. 6261–71.
193. Netea M. G. Interleukin-32 induces the differentiation of monocytes into macrophage-like cells / M. G. Netea, E. C. Lewis, T. Azam, L. A. B. Joosten, J. Jaekal, S.-Y. Bae, C. A. Dinarello, S.-H. Kim // *Proceedings of the National Academy of Sciences.* – 2008. – Vol. 105. – № 9. – P. 3515–3520.
194. Neuendorff N. R. BCR-ABL-positive acute myeloid leukemia: a new entity? Analysis of clinical and molecular features / N. R. Neuendorff, T. Burmeister, B. Dörken, J. Westermann // *Annals of Hematology.* – 2016. – Vol. 95. – № 8. – P. 1211–1221.
195. Nicholson R. Protein Kinase C Epsilon Overexpression Is Associated With Poor Patient Outcomes in AML and Promotes Daunorubicin Resistance Through p-Glycoprotein-Mediated Drug Efflux / R. Nicholson, A. C. Menezes, A. Azevedo, A. Leckenby, S. Davies, C. Seedhouse, A. Gilkes, S. Knapper, A. Tonks, R. L. Darley // *Frontiers in Oncology.* – 2022. – Vol. 12. – P. 840046.

196. Niles M. A. Macrophages and Dendritic Cells Are Not the Major Source of Pro-Inflammatory Cytokines Upon SARS-CoV-2 Infection / M. A. Niles, P. Gogesch, S. Kronhart, S. Ortega Iannazzo, G. Kochs, Z. Waibler, M. Anzaghe // *Frontiers in Immunology*. – 2021. – Vol. 12. – P. 647824.
197. Oh Y. T. ERK/ribosomal S6 kinase (RSK) signaling positively regulates death receptor 5 expression through co-activation of CHOP and Elk1 / Y. T. Oh, X. Liu, P. Yue, S. Kang, J. Chen, J. Taunton, F. R. Khuri, S. Y. Sun // *J Biol Chem*. – 2010. – Vol. 285. – № 53. – P. 41310–9.
198. Ortmann C. A. Effect of mutation order on myeloproliferative neoplasms / C. A. Ortmann, D. G. Kent, J. Nangalia, Y. Silber, D. C. Wedge, J. Grinfeld, E. J. Baxter, C. E. Massie, E. Papaemmanuil, S. Menon, A. L. Godfrey, D. Dimitropoulou, P. Guglielmelli, B. Bellosillo, C. Besses, K. Dohner, C. N. Harrison, G. S. Vassiliou, A. Vannucchi, P. J. Campbell, A. R. Green // *N Engl J Med*. – 2015. – Vol. 372. – № 7. – P. 601–612.
199. Ouyang W. Absence of death receptor translocation into lipid rafts in acquired TRAIL-resistant NSCLC cells / W. Ouyang, C. Yang, S. Zhang, Y. Liu, B. Yang, J. Zhang, F. Zhou, Y. Zhou, C. Xie // *Int J Oncol*. – 2013. – Vol. 42. – № 2. – P. 699–711.
200. Pabst C. GPR56 identifies primary human acute myeloid leukemia cells with high repopulating potential in vivo / C. Pabst, A. Bergeron, V. P. Lavalley, J. Yeh, P. Gendron, G. L. Norddahl, J. Kros, I. Boivin, E. Deneault, J. Simard, S. Imren, G. Boucher, K. Eppert, T. Herold, S. K. Bohlander, K. Humphries, S. Lemieux, J. Hebert, G. Sauvageau, F. Barabe // *Blood*. – 2016. – Vol. 127. – № 16. – P. 2018–27.
201. Page M. J. The Role of Lipopolysaccharide-Induced Cell Signalling in Chronic Inflammation / M. J. Page, D. B. Kell, E. Pretorius // *Chronic Stress*. – 2022. – Vol. 6. – P. 247054702210763.
202. Pandey P. New insights about the PDGF/PDGFR signaling pathway as a promising target to develop cancer therapeutic strategies / P. Pandey, F. Khan, T. K. Upadhyay, M. Seungjoon, M. N. Park, B. Kim // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. – 2023. – Vol. 161. – P. 114491.
203. Pang J. Proliferation of monocytes and macrophages in homeostasis, infection, injury, and disease / J. Pang, T. J. Koh // *Journal of Leukocyte Biology*. – 2023. – Vol. 114. – № 6. – P. 532–546.
204. Pang X. Targeting integrin pathways: mechanisms and advances in therapy / X. Pang, X. He, Z. Qiu, H. Zhang, R. Xie, Z. Liu, Y. Gu, N. Zhao, Q. Xiang, Y. Cui // *Signal Transduction and Targeted Therapy*. – 2023. – Vol. 8. – № 1. – P. 1.
205. Papaemmanuil E. Genomic Classification and Prognosis in Acute Myeloid Leukemia / E. Papaemmanuil, M. Gerstung, L. Bullinger, V. I. Gaidzik, P. Paschka, N. D. Roberts, N. E. Potter, M. Heuser, F. Thol, N. Bolli, G. Gundem, P. Van Loo, I. Martincorena, P. Ganly, L. Mudie, S. McLaren, S. O'Meara, K. Raine, D. R. Jones, J. W. Teague, A. P. Butler, M. F. Greaves, A. Ganser, K. Dohner, R. F. Schlenk, H. Dohner, P. J. Campbell // *N Engl J Med*. – 2016. – Vol. 374. – № 23. – P. 2209–2221.
206. Park E. J. Nutlin-3, a small-molecule MDM2 inhibitor, sensitizes Caki cells to TRAIL-induced apoptosis through p53-mediated PUMA upregulation and ROS-mediated DR5 upregulation / E. J. Park, K. S. Choi, Y. H. Yoo, T. K. Kwon // *Anticancer Drugs*. – 2013. – Vol. 24. – № 3. – P. 260–9.

207. Patel J. P. Prognostic relevance of integrated genetic profiling in acute myeloid leukemia / J. P. Patel, M. Gonen, M. E. Figueroa, H. Fernandez, Z. Sun, J. Racevskis, P. Van Vlierberghe, I. Dolgalev, S. Thomas, O. Aminova, K. Huberman, J. Cheng, A. Viale, N. D. Socci, A. Heguy, A. Cherry, G. Vance, R. R. Higgins, R. P. Ketterling, R. E. Gallagher, M. Litzow, M. R. van den Brink, H. M. Lazarus, J. M. Rowe, S. Luger, A. Ferrando, E. Paietta, M. S. Tallman, A. Melnick, O. Abdel-Wahab, R. L. Levine // *N Engl J Med.* – 2012. – Vol. 366. – № 12. – P. 1079–89.
208. Patel R. K. Expression of myeloid Src-family kinases is associated with poor prognosis in AML and influences Flt3-ITD kinase inhibitor acquired resistance / R. K. Patel, M. C. Weir, K. Shen, D. Snyder, V. S. Cooper, T. E. Smithgall // *PloS One.* – 2019. – Vol. 14. – № 12. – P. e0225887.
209. Pemmaraju N. Improving outcomes for patients with acute myeloid leukemia in first relapse: A single center experience / N. Pemmaraju, H. Kantarjian, G. Garcia-Manero, S. Pierce, M. Cardenas-Turanzas, J. Cortes, F. Ravandi // *American Journal of Hematology.* – 2015. – Vol. 90. – № 1. – P. 27–30.
210. Pietras E. M. Chronic interleukin-1 exposure drives haematopoietic stem cells towards precocious myeloid differentiation at the expense of self-renewal / E. M. Pietras, C. Mirantes-Barbeito, S. Fong, D. Loeffler, L. V. Kovtonyuk, S. Zhang, R. Lakshminarasimhan, C. P. Chin, J.-M. Techner, B. Will, C. Nerlov, U. Steidl, M. G. Manz, T. Schroeder, E. Passequé // *Nature Cell Biology.* – 2016. – Vol. 18. – № 6. – P. 607–618.
211. Pike L. J. Rafts defined: a report on the Keystone Symposium on Lipid Rafts and Cell Function / L. J. Pike // *J Lipid Res.* – 2006. – Vol. 47. – № 7. – P. 1597–8.
212. Pimentel J. M. The Role of TRAIL in Apoptosis and Immunosurveillance in Cancer / J. M. Pimentel, J.-Y. Zhou, G. S. Wu // *Cancers.* – 2023. – Vol. 15. – № 10. – P. 2752.
213. Pirillo C. Metalloproteinase inhibition reduces AML growth, prevents stem cell loss, and improves chemotherapy effectiveness / C. Pirillo, F. Birch, F. S. Tissot, S. G. Anton, M. Haltalli, V. Tini, I. Kong, C. Piot, B. Partridge, C. Pospori, K. Keeshan, S. Santamaria, E. Hawkins, B. Falini, A. Marra, D. Duarte, C. F. Lee, E. Roberts, C. Lo Celso // *Blood Advances.* – 2022. – Vol. 6. – № 10. – P. 3126–3141.
214. Pollyea D. A. Enasidenib, an inhibitor of mutant IDH2 proteins, induces durable remissions in older patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia / D. A. Pollyea, M. S. Tallman, S. de Botton, H. M. Kantarjian, R. Collins, A. S. Stein, M. G. Frattini, Q. Xu, A. Tosolini, W. L. See, K. J. MacBeth, S. V. Agresta, E. C. Attar, C. D. DiNardo, E. M. Stein // *Leukemia.* – 2019. – Vol. 33. – № 11. – P. 2575–2584.
215. Portanova P. Notch inhibition restores TRAIL-mediated apoptosis via AP1-dependent upregulation of DR4 and DR5 TRAIL receptors in MDA-MB-231 breast cancer cells / P. Portanova, A. Notaro, O. Pellerito, S. Sabella, M. Giuliano, G. Calvaruso // *Int J Oncol.* – 2013. – Vol. 43. – № 1. – P. 121–30.
216. Prabhu V. V. ONC201 and imipridones: Anti-cancer compounds with clinical efficacy / V. V. Prabhu, S. Morrow, A. Rahman Kawakibi, L. Zhou, M. Ralff, J. Ray, A. Jhaveri, I. Ferrarini, Y. Lee, C. Parker, Y. Zhang, R. Borsuk, W. I. Chang, J. N. Honeyman, F. Tavora, B. Carneiro, A. Raufi, K. Huntington, L. Carlsen, A. Louie, H. Safran, A. A. Seyhan, R. S. Tarapore, L. Schalop, M. Stogniew, J. E. Allen, W. Oster, W. S. El-Deiry // *Neoplasia.* – 2020. – Vol. 22. – № 12. – P. 725–744.

217. Provance O. K. Deciphering the role of interferon alpha signaling and microenvironment crosstalk in inflammatory breast cancer / O. K. Provance, J. Lewis-Wambi // *Breast Cancer Research*. – 2019. – Vol. 21. – № 1. – P. 59.
218. Puissant A. Walking the Tightrope: Balancing Delicate Inflammation Response to Eradicate Acute Myeloid Leukemia / A. Puissant, H. Medyouf // *Cancer Discovery*. – 2022. – Vol. 12. – Walking the Tightrope. – № 7. – P. 1617–1619.
219. Qing F. Interferon regulatory factor 7 in inflammation, cancer and infection / F. Qing, Z. Liu // *Frontiers in Immunology*. – 2023. – Vol. 14. – P. 1190841.
220. Qiu T. Rap1GAP alters leukemia cell differentiation, apoptosis and invasion in vitro / T. Qiu, X. Qi, J. Cen, Z. Chen // *Oncology Reports*. – 2012. – Vol. 28. – № 2. – P. 622–628.
221. Quek L. Clonal heterogeneity of acute myeloid leukemia treated with the IDH2 inhibitor enasidenib / L. Quek, M. D. David, A. Kennedy, M. Metzner, M. Amatangelo, A. Shih, B. Stoilova, C. Quivoron, M. Heiblig, C. Willekens, V. Saada, S. Alsafadi, M. S. Vijayabaskar, A. Peniket, O. A. Bernard, S. Agresta, K. Yen, K. MacBeth, E. Stein, G. S. Vassiliou, R. Levine, S. De Botton, A. Thakurta, V. Penard-Lacronique, P. Vyas // *Nat Med*. – 2018. – Vol. 24. – № 8. – P. 1167–1177.
222. Ravandi F. Time to abandon traditional chemotherapy for acute promyelocytic leukaemia? / F. Ravandi, H. Kantarjian // *The Lancet Oncology*. – 2015. – Vol. 16. – № 13. – P. 1274–1275.
223. Récher C. Clinical Implications of Inflammation in Acute Myeloid Leukemia / C. Récher // *Frontiers in Oncology*. – 2021. – Vol. 11. – P. 623952.
224. Reiterer G. Platelet-Derived Growth Factor Receptor Regulates Myeloid and Monocytic Differentiation of HL-60 Cells / G. Reiterer, A. Yen // *Cancer Research*. – 2007. – Vol. 67. – № 16. – P. 7765–7772.
225. Resh M. D. Palmitoylation of ligands, receptors, and intracellular signaling molecules / M. D. Resh // *Sci STKE*. – 2006. – Vol. 2006. – № 359. – P. re14.
226. Riccioni R. Immunophenotypic features of acute myeloid leukaemia patients exhibiting high FLT3 expression not associated with mutations / R. Riccioni, E. Pelosi, V. Riti, G. Castelli, F. Lo-Coco, U. Testa // *Br J Haematol*. – 2011. – Vol. 153. – № 1. – P. 33–42.
227. Ripoll V. M. Gpnmb is induced in macrophages by IFN-gamma and lipopolysaccharide and acts as a feedback regulator of proinflammatory responses / V. M. Ripoll, K. M. Irvine, T. Ravasi, M. J. Sweet, D. A. Hume // *J Immunol*. – 2007. – Vol. 178. – № 10. – P. 6557–66.
228. Roboz G. J. Ivosidenib induces deep durable remissions in patients with newly diagnosed IDH1-mutant acute myeloid leukemia / G. J. Roboz, C. D. DiNardo, E. M. Stein, S. de Botton, A. S. Mims, G. T. Prince, J. K. Altman, M. L. Arellano, W. Donnellan, H. P. Erba, G. N. Mannis, D. A. Pollyea, A. S. Stein, G. L. Uy, J. M. Watts, A. T. Fathi, H. M. Kantarjian, M. S. Tallman, S. Choe, D. Dai, B. Fan, H. Wang, V. Zhang, K. E. Yen, S. M. Kapsalis, D. Hickman, H. Liu, S. V. Agresta, B. Wu, E. C. Attar, R. M. Stone // *Blood*. – 2020. – Vol. 135. – № 7. – P. 463–471.
229. Roy A. Biology and management of transient abnormal myelopoiesis (TAM) in children with Down syndrome / A. Roy, I. Roberts, P. Vyas // *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*. – 2012. – Vol. 17. – № 4. – P. 196–201.

230. Ruberti S. MAF Induces Inflammatory Mediators Involved in the Pathogenesis of Primary Myelofibrosis / S. Ruberti, E. Bianchi, T. Fanelli, S. Rontauroli, V. Pennucci, G. Corbizzi Fattori, C. Mannarelli, R. Norfo, C. Rossi, R. Zini, S. Salati, Z. Prudente, E. Tagliafico, P. Guglielmelli, A. M. Vannucchi, R. Manfredini // *Blood*. – 2016. – Vol. 128. – № 22. – P. 3132–3132.
231. Saade M. The Role of GPNMB in Inflammation / M. Saade, G. Araujo De Souza, C. Scavone, P. F. Kinoshita // *Frontiers in Immunology*. – 2021. – Vol. 12. – P. 674739.
232. Sag D. The Role of TRAIL/DRs in the Modulation of Immune Cells and Responses / D. Sag, Z. O. Ayyildiz, S. Gunalp, G. Wingender // *Cancers*. – 2019. – Vol. 11. – № 10. – P. 1469.
233. Saiki Y. Human EVI9, a Homologue of the Mouse Myeloid Leukemia Gene, Is Expressed in the Hematopoietic Progenitors and Down-Regulated during Myeloid Differentiation of HL60 Cells / Y. Saiki, Y. Yamazaki, M. Yoshida, O. Katoh, T. Nakamura // *Genomics*. – 2000. – Vol. 70. – № 3. – P. 387–391.
234. Samudio I. Apoptosis in leukemias: regulation and therapeutic targeting / I. Samudio, M. Konopleva, B. Carter, M. Andreeff // *Cancer Treat Res*. – 2010. – Vol. 145. – P. 197–217.
235. Sanaei M. Effect of valproic acid on extrinsic (DR4, DR5, FAS, FAS-L, TRAIL) and intrinsic (BAX, BAK and APAF1, Bcl-2, and Bcl-xL) apoptotic pathways, cell viability and apoptosis in hepatocellular carcinoma PLC/PRF5 cell line / M. Sanaei, F. Kavooosi // *Feyz J Kashan Univ Med Sci*. – 2021. – Vol. 24. – № 6. – P. 601–9.
236. Sancho M. Understanding MCL1: from cellular function and regulation to pharmacological inhibition / M. Sancho, D. Leiva, E. Lucendo, M. Orzáez // *The FEBS Journal*. – 2022. – Vol. 289. – № 20. – P. 6209–6234.
237. Saraei R. The role of XIAP in resistance to TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) in Leukemia / R. Saraei, M. Soleimani, A. A. Movassaghpour Akbari, M. Farshdousti Hagh, A. Hassanzadeh, S. Solali // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. – 2018. – Vol. 107. – P. 1010–1019.
238. Schüler S. HDAC2 attenuates TRAIL-induced apoptosis of pancreatic cancer cells / S. Schüler, P. Fritsche, S. Diersch, A. Arlt, R. M. Schmid, D. Saur, G. Schneider // *Molecular Cancer*. – 2010. – Vol. 9. – № 1. – P. 80.
239. Schürch C. Cytotoxic T cells induce proliferation of chronic myeloid leukemia stem cells by secreting interferon- γ / C. Schürch, C. Riether, M. A. Amrein, A. F. Ochsenbein // *Journal of Experimental Medicine*. – 2013. – Vol. 210. – № 3. – P. 605–621.
240. Secchiero P. Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand induces monocytic maturation of leukemic and normal myeloid precursors through a caspase-dependent pathway / P. Secchiero, A. Gonelli, P. Mirandola, E. Melloni, L. Zamai, C. Celeghini, D. Milani, G. Zauli // *Blood*. – 2002. – Vol. 100. – № 7. – P. 2421–2429.
241. Seo W. The dual role of autophagy in acute myeloid leukemia / W. Seo, P. Silwal, I.-C. Song, E.-K. Jo // *Journal of Hematology & Oncology*. – 2022. – Vol. 15. – № 1. – P. 51.
242. Shah K. Divergent Roles of c-Src in Controlling Platelet-derived Growth Factor-dependent Signaling in Fibroblasts / K. Shah, F. Vincent // *Molecular Biology of the Cell*. – 2005. – Vol. 16. – № 11. – P. 5418–5432.

243. Sheikh M. S. p53-dependent and -independent regulation of the death receptor KILLER/DR5 gene expression in response to genotoxic stress and tumor necrosis factor alpha / M. S. Sheikh, T. F. Burns, Y. Huang, G. S. Wu, S. Amundson, K. S. Brooks, A. J. Fornace, W. S. el-Deiry // *Cancer Res.* – 1998. – Vol. 58. – № 8. – P. 1593–8.
244. Sherif H. A. Treatment outcome of doxorubicin versus idarubicin in adult acute myeloid leukemia / H. A. Sherif, A. Magdy, H. A. Elshesheni, S. M. Ramadan, R. A. Rashed // *Leukemia Research Reports.* – 2021. – Vol. 16. – P. 100272.
245. Shetty S. Transcription factor NF-kappaB differentially regulates death receptor 5 expression involving histone deacetylase 1 / S. Shetty, B. A. Graham, J. G. Brown, X. Hu, N. Vegh-Yarema, G. Harding, J. T. Paul, S. B. Gibson // *Mol Cell Biol.* – 2005. – Vol. 25. – № 13. – P. 5404–16.
246. Shi Y. Oxidative stress-driven DR5 upregulation restores TRAIL/Apo2L sensitivity induced by iron oxide nanoparticles in colorectal cancer / Y. Shi, J. Wang, J. Liu, G. Lin, F. Xie, X. Pang, Y. Pei, Y. Cheng, Y. Zhang, Z. Lin, Z. Yin, X. Wang, G. Niu, X. Chen, G. Liu // *Biomaterials.* – 2020. – Vol. 233. – P. 119753.
247. Shih A. H. Combination Targeted Therapy to Disrupt Aberrant Oncogenic Signaling and Reverse Epigenetic Dysfunction in IDH2- and TET2-Mutant Acute Myeloid Leukemia / A. H. Shih, C. Meydan, K. Shank, F. E. Garrett-Bakelman, P. S. Ward, A. M. Intlekofer, A. Nazir, E. M. Stein, K. Knapp, J. Glass, J. Travins, K. Straley, C. Gliser, C. E. Mason, K. Yen, C. B. Thompson, A. Melnick, R. L. Levine // *Cancer Discov.* – 2017. – Vol. 7. – № 5. – P. 494–505.
248. Shiiki K. Potential mechanisms of resistance to TRAIL/Apo2L-induced apoptosis in human promyelocytic leukemia HL-60 cells during granulocytic differentiation / K. Shiiki, H. Yoshikawa, H. Kinoshita, M. Takeda, A. Ueno, Y. Nakajima, K. Tasaka // *Cell Death & Differentiation.* – 2000. – Vol. 7. – № 10. – P. 939–946.
249. Shlush L. I. Identification of pre-leukaemic haematopoietic stem cells in acute leukaemia / L. I. Shlush, S. Zandi, A. Mitchell, W. C. Chen, J. M. Brandwein, V. Gupta, J. A. Kennedy, A. D. Schimmer, A. C. Schuh, K. W. Yee, J. L. McLeod, M. Doedens, J. J. Medeiros, R. Marke, H. J. Kim, K. Lee, J. D. McPherson, T. J. Hudson, Halt Pan-Leukemia Gene Panel Consortium, A. M. Brown, F. Yousif, Q. M. Trinh, L. D. Stein, M. D. Minden, J. C. Wang, J. E. Dick // *Nature.* – 2014. – Vol. 506. – № 7488. – P. 328–33.
250. Shoeb M. Aldose reductase inhibition enhances TRAIL-induced human colon cancer cell apoptosis through AKT/FOXO3a-dependent upregulation of death receptors / M. Shoeb, K. V. Ramana, S. K. Srivastava // *Free Radic Biol Med.* – 2013. – Vol. 63. – P. 280–90.
251. Short N. J. Acute myeloid leukaemia / N. J. Short, M. E. Rytting, J. E. Cortes // *The Lancet.* – 2018. – Vol. 392. – № 10147. – P. 593–606.
252. Shuvaev V. A. Clinical Experience and Perspectives of Bosutinib Use in Patients with Chronic Myeloid Leukemia / V. A. Shuvaev, O. Y. Vinogradova, I. S. Martynkevich, N. V. Novitskaya, M. S. Fominykh, S. N. Tsareva, D. I. Shikhabaeva, M. M. Pankrashkina, M. V. Chernikov, N. N. Sharkunov, I. I. Zotova, V. Yu. Udal'eva, E. V. Motyko, S. V. Voloshin // *Clinical oncohematology.* – 2018. – Vol. 11. – № 4. – P. 288–294.
253. Sikkema A. H. Fibronectin aggregates promote features of a classically and alternatively activated phenotype in macrophages / A. H. Sikkema, J. M. J. Stoffels, P. Wang, F. J. Basedow,

- R. Bultink, J. J. Bajramovic, W. Baron // *Journal of Neuroinflammation*. – 2018. – Vol. 15. – № 1. – P. 218.
254. Simova S. Arf and Rho GAP adapter protein ARAP1 participates in the mobilization of TRAIL-R1/DR4 to the plasma membrane / S. Simova, M. Klima, L. Cermak, V. Sourkova, L. Andera // *Apoptosis*. – 2008. – Vol. 13. – № 3. – P. 423–36.
255. Singh D. Revisiting the role of TRAIL/TRAIL-R in cancer biology and therapy / D. Singh, M. Tewari, S. Singh, G. Narayan // *Future Oncology*. – 2021. – Vol. 17. – № 5. – P. 581–596.
256. Singh T. R. HDAC inhibitors enhance the apoptosis-inducing potential of TRAIL in breast carcinoma / T. R. Singh, S. Shankar, R. K. Srivastava // *Oncogene*. – 2005. – Vol. 24. – № 29. – P. 4609–23.
257. Sletta K. Y. Colony Stimulating Factor 1 Receptor in Acute Myeloid Leukemia / K. Y. Sletta, O. Castells, B. T. Gjertsen // *Frontiers in Oncology*. – 2021. – Vol. 11. – P. 654817.
258. Snajdauf M. The TRAIL in the Treatment of Human Cancer: An Update on Clinical Trials / M. Snajdauf, K. Havlova, J. Vachtenheim, A. Ozaniak, R. Lischke, J. Bartunkova, D. Smrz, Z. Strizova // *Frontiers in Molecular Biosciences*. – 2021. – Vol. 8. – P. 628332.
259. Son Y. G. Silibinin sensitizes human glioma cells to TRAIL-mediated apoptosis via DR5 up-regulation and down-regulation of c-FLIP and survivin / Y. G. Son, E. H. Kim, J. Y. Kim, S. U. Kim, T. K. Kwon, A. R. Yoon, C. O. Yun, K. S. Choi // *Cancer Res*. – 2007. – Vol. 67. – № 17. – P. 8274–84.
260. Song J. H. Lipid rafts and nonrafts mediate tumor necrosis factor related apoptosis-inducing ligand induced apoptotic and nonapoptotic signals in non small cell lung carcinoma cells / J. H. Song, M. C. Tse, A. Bellail, S. Phuphanich, F. Khuri, N. M. Kneteman, C. Hao // *Cancer Res*. – 2007. – Vol. 67. – № 14. – P. 6946–55.
261. Soucie E. L. Lineage-specific enhancers activate self-renewal genes in macrophages and embryonic stem cells / E. L. Soucie, Z. Weng, L. Geirsdottir, K. Molawi, J. Maurizio, R. Fenouil, N. Mossadegh-Keller, G. Gimenez, L. VanHille, M. Beniazza, J. Favret, C. Berruyer, P. Perrin, N. Hacohen, J. C. Andrau, P. Ferrier, P. Dubreuil, A. Sidow, M. H. Sieweke // *Science*. – 2016. – Vol. 351. – № 6274. – P. aad5510.
262. Stein E. M. Ivosidenib or enasidenib combined with intensive chemotherapy in patients with newly diagnosed AML: a phase 1 study / E. M. Stein, C. D. DiNardo, A. T. Fathi, A. S. Mims, K. W. Pratz, M. R. Savona, A. S. Stein, R. M. Stone, E. S. Winer, C. S. Seet, H. Döhner, D. A. Pollyea, J. K. McCloskey, O. Odenike, B. Löwenberg, G. J. Ossenkoppele, P. A. Patel, M. Roshal, M. G. Frattini, F. Lersch, A. Franovic, S. Nabhan, B. Fan, S. Choe, H. Wang, B. Wu, L. Hua, C. Almon, M. Cooper, H. M. Kantarjian, M. S. Tallman // *Blood*. – 2021. – Vol. 137. – № 13. – P. 1792–1803.
263. Stengel A. Number of RUNX1 mutations, wild-type allele loss and additional mutations impact on prognosis in adult RUNX1-mutated AML / A. Stengel, W. Kern, M. Meggendorfer, N. Nadarajah, K. Perglerová, T. Haferlach, C. Haferlach // *Leukemia*. – 2018. – Vol. 32. – № 2. – P. 295–302.
264. Stinson M. W. Macrophage migration is differentially regulated by fibronectin and laminin through altered adhesion and myosin II localization / M. W. Stinson, S. Liu, A. J. Laurenson, J. D. Rotty // *Molecular Biology of the Cell*. – 2024. – Vol. 35. – № 2. – P. ar22.

265. Subramanian A. Gene set enrichment analysis: A knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles / A. Subramanian, P. Tamayo, V. K. Mootha, S. Mukherjee, B. L. Ebert, M. A. Gillette, A. Paulovich, S. L. Pomeroy, T. R. Golub, E. S. Lander, J. P. Mesirov // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2005. – Vol. 102. – № 43. – P. 15545–15550.
266. Sung B. Capsazepine, a TRPV1 antagonist, sensitizes colorectal cancer cells to apoptosis by TRAIL through ROS-JNK-CHOP-mediated upregulation of death receptors / B. Sung, S. Prasad, J. Ravindran, V. R. Yadav, B. B. Aggarwal // *Free Radic Biol Med*. – 2012. – Vol. 53. – № 10. – P. 1977–87.
267. Szklarczyk D. STRING v11: protein–protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets / D. Szklarczyk, A. L. Gable, D. Lyon, A. Junge, S. Wyder, J. Huerta-Cepas, M. Simonovic, N. T. Doncheva, J. H. Morris, P. Bork, L. J. Jensen, C. von Mering // *Nucleic Acids Research*. – 2019. – Vol. 47. – STRING v11. – № D1. – P. D607–D613.
268. Takahashi K. Preleukaemic clonal haemopoiesis and risk of therapy-related myeloid neoplasms: a case-control study / K. Takahashi, F. Wang, H. Kantarjian, D. Doss, K. Khanna, E. Thompson, L. Zhao, K. Patel, S. Neelapu, C. Gumbs, C. Bueso-Ramos, C. D. DiNardo, S. Colla, F. Ravandi, J. Zhang, X. Huang, X. Wu, F. Samaniego, G. Garcia-Manero, P. A. Futreal // *The Lancet Oncology*. – 2017. – Vol. 18. – № 1. – P. 100–111.
269. Takahashi S. Current findings for recurring mutations in acute myeloid leukemia / S. Takahashi // *J Hematol Oncol*. – 2011. – Vol. 4. – P. 36.
270. Tang C. The macrophage cholesterol exporter ABCA1 functions as an anti-inflammatory receptor / C. Tang, Y. Liu, P. S. Kessler, A. M. Vaughan, J. F. Oram // *J Biol Chem*. – 2009. – Vol. 284. – № 47. – P. 32336–43.
271. Taya M. Glycoprotein Non-Metastatic Melanoma Protein B (GPNMB) and Cancer: A Novel Potential Therapeutic Target / M. Taya, S. R. Hammes // *Steroids*. – 2018. – Vol. 133. – P. 102–107.
272. Tecchio C. IFN α -stimulated neutrophils and monocytes release a soluble form of TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL/Apo-2 ligand) displaying apoptotic activity on leukemic cells / C. Tecchio, V. Huber, P. Scapini, F. Calzetti, D. Margotto, G. Todeschini, L. Pilla, G. Martinelli, G. Pizzolo, L. Rivoltini, M. A. Cassatella // *Blood*. – 2004. – Vol. 103. – № 10. – P. 3837–3844.
273. Toume K. Prenylated flavonoids and resveratrol derivatives isolated from *Artocarpus communis* with the ability to overcome TRAIL resistance / K. Toume, T. Habu, M. A. Arai, T. Koyano, T. Kowithayakorn, M. Ishibashi // *J Nat Prod*. – 2015. – Vol. 78. – № 1. – P. 103–10.
274. Tsapogas P. The Cytokine Flt3-Ligand in Normal and Malignant Hematopoiesis / P. Tsapogas, C. Mooney, G. Brown, A. Rolink // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2017. – Vol. 18. – № 6. – P. 1115.
275. Twomey J. D. Spatial dynamics of TRAIL death receptors in cancer cells / J. D. Twomey, S. R. Kim, L. Zhao, W. P. Bozza, B. Zhang // *Drug Resist Updat*. – 2015. – Vol. 19. – P. 13–21.
276. Uchino T. Increase of β 2-integrin on adhesion of THP-1 cells to collagen vitrigel membrane / T. Uchino, Y. Kuroda, S. Ishida, K. Yamashita, H. Miyazaki, A. Oshikata, K. Shimizu,

- H. Kojima, T. Takezawa, T. Akiyama, Y. Ikarashi // *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. – 2016. – Vol. 80. – № 11. – P. 2271–2276.
277. Ullmark T. Anti-apoptotic quinolinate phosphoribosyltransferase (QPRT) is a target gene of Wilms' tumor gene 1 (WT1) protein in leukemic cells / T. Ullmark, G. Montano, L. Jarvstrat, H. Jernmark Nilsson, E. Hakansson, K. Drott, B. Nilsson, K. Vidovic, U. Gullberg // *Biochem Biophys Res Commun*. – 2017. – Vol. 482. – № 4. – P. 802–807.
278. Unuvar Purcu D. Effect of stimulation time on the expression of human macrophage polarization markers / D. Unuvar Purcu, A. Korkmaz, S. Gunalp, D. G. Helvacı, Y. Erdal, Y. Dogan, A. Suner, G. Wingender, D. Sag // *PLOS ONE*. – 2022. – Vol. 17. – № 3. – P. e0265196.
279. Uxa S. Ki-67 gene expression / S. Uxa, P. Castillo-Binder, R. Kohler, K. Stangner, G. A. Müller, K. Engeland // *Cell Death & Differentiation*. – 2021. – Vol. 28. – № 12. – P. 3357–3370.
280. Van Galen P. Single-Cell RNA-Seq Reveals AML Hierarchies Relevant to Disease Progression and Immunity / P. Van Galen, V. Hovestadt, M. H. Wadsworth II, T. K. Hughes, G. K. Griffin, S. Battaglia, J. A. Verga, J. Stephansky, T. J. Pastika, J. Lombardi Story, G. S. Pinkus, O. Pozdnyakova, I. Galinsky, R. M. Stone, T. A. Graubert, A. K. Shalek, J. C. Aster, A. A. Lane, B. E. Bernstein // *Cell*. – 2019. – Vol. 176. – № 6. – P. 1265–1281.e24.
281. Villar J. Monocytes differentiate along two alternative pathways during sterile inflammation / J. Villar, L. Ouaknin, A. Cros, E. Segura // *EMBO reports*. – 2023. – Vol. 24. – № 7. – P. e56308.
282. Voisset E. SRC-Family Kinases in Acute Myeloid Leukaemia and Mastocytosis / E. Voisset, F. Brenet, S. Lopez, P. De Sepulveda // *Cancers*. – 2020. – Vol. 12. – № 7. – P. 1996.
283. Volk A. Co-inhibition of NF- κ B and JNK is synergistic in TNF-expressing human AML / A. Volk, J. Li, J. Xin, D. You, J. Zhang, X. Liu, Y. Xiao, P. Breslin, Z. Li, W. Wei, R. Schmidt, X. Li, Z. Zhang, P. C. Kuo, S. Nand, J. Zhang, J. Chen, J. Zhang // *Journal of Experimental Medicine*. – 2014. – Vol. 211. – № 6. – P. 1093–1108.
284. Wagner K. W. Death-receptor O-glycosylation controls tumor-cell sensitivity to the proapoptotic ligand Apo2L/TRAIL / K. W. Wagner, E. A. Punnoose, T. Januario, D. A. Lawrence, R. M. Pitti, K. Lancaster, D. Lee, M. von Goetz, S. F. Yee, K. Totpal, L. Huw, V. Katta, G. Cavet, S. G. Hymowitz, L. Amler, A. Ashkenazi // *Nat Med*. – 2007. – Vol. 13. – № 9. – P. 1070–7.
285. Wågsäter D. ADAMTS-4 and -8 are inflammatory regulated enzymes expressed in macrophage-rich areas of human atherosclerotic plaques / D. Wågsäter, H. Björk, C. Zhu, J. Björkegren, G. Valen, A. Hamsten, P. Eriksson // *Atherosclerosis*. – 2008. – Vol. 196. – № 2. – P. 514–522.
286. Wajant. Molecular Mode of Action of TRAIL Receptor Agonists—Common Principles and Their Translational Exploitation / Wajant // *Cancers*. – 2019. – Vol. 11. – № 7. – P. 954.
287. Waldmann T. A. Cytokines in Cancer Immunotherapy / T. A. Waldmann // *Cold Spring Harb Perspect Biol*. – 2018. – Vol. 10. – № 12. – P. a028472.
288. Wang B. T. Multimeric Anti-DR5 IgM Agonist Antibody IGM-8444 Is a Potent Inducer of Cancer Cell Apoptosis and Synergizes with Chemotherapy and BCL-2 Inhibitor ABT-199 / B. T. Wang, T. Kothambawala, L. Wang, T. J. Matthew, S. E. Calhoun, A. K. Saini, M. F. Kotturi,

- G. Hernandez, E. W. Humke, M. S. Peterson, A. M. Sinclair, B. A. Keyt // *Molecular Cancer Therapeutics*. – 2021. – Vol. 20. – № 12. – P. 2483–2494.
289. Webb D. Haematology of Down syndrome / D. Webb, I. Roberts, P. Vyas // *Archives of Disease in Childhood - Fetal and Neonatal Edition*. – 2007. – Vol. 92. – № 6. – P. F503–F507.
290. Werneburg N. W. Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand activates a lysosomal pathway of apoptosis that is regulated by Bcl-2 proteins / N. W. Werneburg, M. E. Guicciardi, S. F. Bronk, S. H. Kaufmann, G. J. Gores // *J Biol Chem*. – 2007. – Vol. 282. – № 39. – P. 28960–28970.
291. Willms A. Impact of p53 status on TRAIL-mediated apoptotic and non-apoptotic signaling in cancer cells / A. Willms, H. Schitteck, S. Rahn, J. Sosna, U. Mert, D. Adam, A. Trauzold // *PLoS One*. – 2019. – Vol. 14. – № 4. – P. e0214847.
292. Wilt L. H. de. Bortezomib and TRAIL: a perfect match for apoptotic elimination of tumour cells? / L. H. de Wilt, J. Kroon, G. Jansen, S. de Jong, G. J. Peters, F. A. Kruyt // *Crit Rev Oncol Hematol*. – 2013. – Vol. 85. – № 3. – P. 363–72.
293. Woo J. S. Lipoygenase inhibitor MK886 potentiates TRAIL-induced apoptosis through CHOP- and p38 MAPK-mediated up-regulation of death receptor 5 in malignant glioma / J. S. Woo, S. M. Kim, C. H. Jeong, C. H. Ryu, S. S. Jeun // *Biochem Biophys Res Commun*. – 2013. – Vol. 431. – № 2. – P. 354–9.
294. Wu Y. H. Removal of syndecan-1 promotes TRAIL-induced apoptosis in myeloma cells / Y. H. Wu, C. Y. Yang, W. L. Chien, K. I. Lin, M. Z. Lai // *J Immunol*. – 2012. – Vol. 188. – № 6. – P. 2914–21.
295. Xuan L. Sorafenib maintenance after allogeneic haemopoietic stem-cell transplantation in patients with FLT3-ITD acute myeloid leukaemia: long-term follow-up of an open-label, multicentre, randomised, phase 3 trial / L. Xuan, Y. Wang, K. Yang, R. Shao, F. Huang, Z. Fan, P. Chi, Y. Xu, N. Xu, L. Deng, X. Li, X. Liang, X. Luo, P. Shi, H. Liu, Z. Wang, L. Jiang, R. Lin, Y. Chen, S. Tu, Y. Zhang, J. Sun, X. Huang, Q. Liu // *The Lancet Haematology*. – 2023. – Vol. 10. – № 8. – P. e600–e611.
296. Xu L. beta-elemene increases the sensitivity of gastric cancer cells to TRAIL by promoting the formation of DISC in lipid rafts / L. Xu, T. Guo, X. Qu, X. Hu, Y. Zhang, X. Che, H. Song, J. Gong, R. Ma, C. Li, Y. Fan, Y. Ma, K. Hou, P. Wu, H. Dong, Y. Liu // *Cell Biol Int*. – 2018. – Vol. 42. – № 10. – P. 1377–1385.
297. Xu L. Cetuximab enhances TRAIL-induced gastric cancer cell apoptosis by promoting DISC formation in lipid rafts / L. Xu, X. Hu, X. Qu, K. Hou, H. Zheng, Y. Liu // *Biochem Biophys Res Commun*. – 2013. – Vol. 439. – № 2. – P. 285–90.
298. Yang F. Anthracyclines induce double-strand DNA breaks at active gene promoters / F. Yang, C. J. Kemp, S. Henikoff // *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. – 2015. – Vol. 773. – P. 9–15.
299. Yamada O. The role of the JAK-STAT pathway and related signal cascades in telomerase activation during the development of hematologic malignancies / O. Yamada, K. Kawauchi // *JAKSTAT*. – 2013. – Vol. 2. – № 4. – P. e25256.

300. Yamaguchi H. CHOP is involved in endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis by enhancing DR5 expression in human carcinoma cells / H. Yamaguchi, H. G. Wang // *J Biol Chem.* – 2004. – Vol. 279. – № 44. – P. 45495–502.
301. Yan S. Down-regulation of Cbl-b by bufalin results in up-regulation of DR4/DR5 and sensitization of TRAIL-induced apoptosis in breast cancer cells / S. Yan, X. Qu, C. Xu, Z. Zhu, L. Zhang, L. Xu, N. Song, Y. Teng, Y. Liu // *J Cancer Res Clin Oncol.* – 2012. – Vol. 138. – № 8. – P. 1279–89.
302. Yoshida T. Promoter structure and transcription initiation sites of the human death receptor 5/TRAIL-R2 gene / T. Yoshida, A. Maeda, N. Tani, T. Sakai // *FEBS Lett.* – 2001. – Vol. 507. – № 3. – P. 381–5.
303. Yoshida T. Proteasome inhibitor MG132 induces death receptor 5 through CCAAT/enhancer-binding protein homologous protein / T. Yoshida, T. Shiraishi, S. Nakata, M. Horinaka, M. Wakada, Y. Mizutani, T. Miki, T. Sakai // *Cancer Res.* – 2005. – Vol. 65. – № 13. – P. 5662–7.
304. Yoshida T. Repeated treatment with subtoxic doses of TRAIL induces resistance to apoptosis through its death receptors in MDA-MB-231 breast cancer cells / T. Yoshida, Y. Zhang, L. A. Rivera Rosado, B. Zhang // *Mol Cancer Res.* – 2009. – Vol. 7. – № 11. – P. 1835–44.
305. Yoyen-Ermis D. Myeloid maturation potentiates STAT3-mediated atypical IFN- γ signaling and upregulation of PD-1 ligands in AML and MDS / D. Yoyen-Ermis, G. Tunali, E. Tavukcuoglu, U. Horzum, D. Ozkazanc, T. Sutlu, Y. Buyukasik, G. Esendagli // *Scientific Reports.* – 2019. – Vol. 9. – № 1. – P. 11697.
306. Zaitsev D. V. Gemtuzumab Ozogamicin in the Treatment of Critical Patients with Refractory Acute Myeloid Leukemia (3 Case Reports) / D. V. Zaitsev, L. L. Girshova, V. V. Ivanov, I. G. Budaeva, D. V. Motorin, R. Sh. Badaev, K. V. Bogdanov, Yu. V. Mirolyubova, T. S. Nikulina, K. A. Zagorodnikova, N. A. Zhukova, S. V. Efremova, T. V. Chitanava, Yu. A. Alekseeva, A. Y. Zaritskey // *Clinical oncohematology.* – 2020. – Vol. 13. – № 1. – P. 67–74.
307. Zelová H. TNF- α signalling and inflammation: interactions between old acquaintances / H. Zelová, J. Hošek // *Inflammation Research.* – 2013. – Vol. 62. – № 7. – P. 641–651.
308. Zhang B. Histone Deacetylase Inhibitors Sensitize TRAIL-Induced Apoptosis in Colon Cancer Cells / B. Zhang, B. Liu, D. Chen, R. Setroikromo, H. J. Haisma, W. J. Quax // *Cancers (Basel).* – 2019. – Vol. 11. – № 5. – P. 645.
309. Zhang J. Mechanisms of drug resistance in acute myeloid leukemia / J. Zhang, Y. Gu, B. Chen // *Onco Targets Ther.* – 2019. – Vol. 12. – P. 1937– 1945.
310. Zhang S. Interplay between inflammatory tumor microenvironment and cancer stem cells (Review) / S. Zhang, X. Yang, L. Wang, C. Zhang // *Oncology Letters.* – 2018. – Vol. 6. – № 1. – P. 679–686.
311. Zhang T. NF- κ B signaling in inflammation and cancer / T. Zhang, C. Ma, Z. Zhang, H. Zhang, H. Hu // *MedComm.* – 2021. – Vol. 2. – № 4. – P. 618–653.
312. Zhang X. D. Differential localization and regulation of death and decoy receptors for TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) in human melanoma cells / X. D. Zhang, A. V. Franco, T. Nguyen, C. P. Gray, P. Hersey // *J Immunol.* – 2000. – Vol. 164. – № 8. – P. 3961–70.

313. Zhang X. Dnmt3a loss and Idh2 neomorphic mutations mutually potentiate malignant hematopoiesis / X. Zhang, X. Wang, X. Q. D. Wang, J. Su, N. Putluri, T. Zhou, Y. Qu, M. Jeong, A. Guzman, C. Rosas, Y. Huang, A. Sreekumar, W. Li, M. A. Goodell // *Blood*. – 2020. – Vol. 135. – № 11. – P. 845–856.
314. Zhang Y. TRAIL induces endocytosis of its death receptors in MDA-MB-231 breast cancer cells / Y. Zhang, T. Yoshida, B. Zhang // *Cancer Biol Ther*. – 2009. – Vol. 8. – № 10. – P. 917–22.
315. Zhang Y. TRAIL resistance of breast cancer cells is associated with constitutive endocytosis of death receptors 4 and 5 / Y. Zhang, B. Zhang // *Mol Cancer Res*. – 2008. – Vol. 6. – № 12. – P. 1861–71.
316. Zhang Y. The history and advances in cancer immunotherapy: understanding the characteristics of tumor-infiltrating immune cells and their therapeutic implications / Y. Zhang, Z. Zhang // *Cell Mol Immunol*. – 2020. – Vol. 17. – № 8. – P. 807–821.
317. Zhao Y. Kaempferol Sensitizes Human Ovarian Cancer Cells-OVCAR-3 and SKOV-3 to Tumor Necrosis Factor-Related Apoptosis-Inducing Ligand (TRAIL)-Induced Apoptosis via JNK/ERK-CHOP Pathway and Up-Regulation of Death Receptors 4 and 5 / Y. Zhao, B. Tian, Y. Wang, H. Ding // *Med Sci Monit*. – 2017. – Vol. 23. – P. 5096–5105.
318. Zhong F.-M. Inflammatory response mediates cross-talk with immune function and reveals clinical features in acute myeloid leukemia / F.-M. Zhong, F.-Y. Yao, J. Liu, H.-B. Zhang, M.-Y. Li, J.-Y. Jiang, Y.-M. Xu, W.-M. Yang, S.-Q. Li, J. Zhang, Y. Cheng, S. Xu, B. Huang, X.-Z. Wang // *Bioscience Reports*. – 2022. – Vol. 42. – № 5. – P. BSR20220647.
319. Zhou J. Identification and targeting leukemia stem cells: The path to the cure for acute myeloid leukemia / J. Zhou, W. J. Chng // *World J Stem Cells*. – 2014. – Vol. 6. – № 4. – P. 473–84.
320. Zhu H.-H. Oral arsenic plus retinoic acid versus intravenous arsenic plus retinoic acid for non-high-risk acute promyelocytic leukaemia: a non-inferiority, randomised phase 3 trial / H.-H. Zhu, D.-P. Wu, X. Du, X. Zhang, L. Liu, J. Ma, Z.-H. Shao, H.-Y. Ren, J.-D. Hu, K.-L. Xu, J.-W. Wang, Y.-P. Song, M.-Y. Fang, J. Li, X.-Y. Yan, X.-J. Huang // *The Lancet Oncology*. – 2018. – Vol. 19. – № 7. – P. 871–879.
321. Zollbrecht C. Nitrite-mediated reduction of macrophage NADPH oxidase activity is dependent on xanthine oxidoreductase-derived nitric oxide but independent of S-nitrosation / C. Zollbrecht, A. E. G. Persson, J. O. Lundberg, E. Weitzberg, M. Carlström // *Redox Biology*. – 2016. – Vol. 10. – P. 119–127.
322. Zou W. c-Jun NH2-terminal kinase-mediated up-regulation of death receptor 5 contributes to induction of apoptosis by the novel synthetic triterpenoid methyl-2-cyano-3,12-dioxooleana-1,9-dien-28-oate in human lung cancer cells / W. Zou, X. Liu, P. Yue, Z. Zhou, M. B. Sporn, R. Lotan, F. R. Khuri, S. Y. Sun // *Cancer Res*. – 2004. – Vol. 64. – № 20. – P. 7570–8.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи

1. **Ломовская Я.В.** Исследование активации сигнальных путей в TRAIL-резистентных макрофагоподобных клетках острого миелоидного лейкоза / Ломовская Я.В., Краснов К.С., Кобякова М.И., Колотова А.А., Ермаков А.М., Сенотов А.С., Фадеева И.С., Фетисова Е.И., Ломовский А.И., Звягина А.И., Акатов В.С., Фадеев Р.С. // Acta Naturae – 2024 – Vol.60(1). P. 48-58.
2. Kobyakova M.I. Pro-Inflammatory Activation Suppresses TRAIL-induced Apoptosis of Acute Myeloid Leukemia Cells / Kobyakova M.I., Senotov A.S., Krasnov K.S., **Lomovskaya Y.V.**, Odnokova I.V., Kolotova A.A., Ermakov A.M., Zvyagina A I., Fadeeva I.S., Fetisova E.I., Akatov V.S., Fadeev R.S. // Biochemistry (Moscow) — 2024 — Vol. 89(3) P. 431-440.
3. **Lomovskaya Y.V.** Macrophage-like THP-1 Cells Derived from High-Density Cell Culture Are Resistant to TRAIL-Induced Cell Death via Down-Regulation of Death-Receptors DR4 and DR5 / Lomovskaya Y.V., Kobyakova M.I., Senotov A.S., Lomovsky A.I.; Minaychev V.V., Fadeeva I.S., Shtatnova D.Y., Krasnov K.S., Zvyagina A.I., Akatov, V.S., Fadeev R.S. // Biomolecules — 2022 — Vol. 12(2). P. 150.
4. **Lomovskaya Ya.V.** Myeloid differentiation increases resistance of leukemic cells to TRAIL-induced death by reducing the expression of DR4 and DR5 receptors / Lomovskaya Ya.V., Kobyakova M.I., Senotov A.S., Fadeeva I.S., Lomovsky A.I., Krasnov K.S., Shtatnova D.Yu., Akatov V.S., Fadeev R.S // Biochemistry (Moscow), Supplement Series A: Membrane and Cell Biology — 2022 — Vol. 17. P. 43–57.
5. **Евстратова (Ломовская) Y.V.** Monocyte-Macrophage Differentiation Suppresses the Expression of Proapoptotic Receptors to Apo2L/TRAIL and Increases Resistance to TRAIL-Induced Apoptosis / Evstratova Y.V., Kobyakova M.I., Novikova V.V., Senotov A.S., Akatov V.S., Fadeev R.S // Biophysics — 2019 — Vol. 64. P. 729–731.

Статьи и тезисы в сборниках материалов конференций

1. **Евстратова (Ломовская) Я.В.**, Кобякова М.И., Фадеев Р.С. Исследование фенотипа макрофагоподобных клеток острого миелоидного лейкоза // Материалы X Всероссийского с международным участием Конгресса молодых ученых-биологов «Симбиоз - Россия 2017» (Казань, Россия, 25-28 октября 2017 г.), стр. 169-170. ISBN 978-5-00019-883-4.
2. **Евстратова (Ломовская) Я.В.**, Кобякова М.И., Фадеев Р.С., Акатов В.С. Изучение созревания в макрофагальном направлении клеток острого миелоидного лейкоза // Материалы XVII Всероссийской конференции молодых ученых «Экспериментальная и

теоретическая биофизика» (Пушино, Россия, 31 октября - 1 ноября 2017 г.), стр. 23-24. ISBN 978-5-91874-048-4.

3. **Евстратова (Ломовская) Я.В.**, Кобякова М.И., Фадеев Р.С. Исследование экспрессии рецепторов семейства фактора некроза опухоли в макрофагоподобных клетках острого миелоидного лейкоза // Материалы III Всероссийской конференции по молекулярной онкологии (Москва, Россия, 6-8 декабря 2017 г.), стр. 73-74. ISSN: 2313-805X.

4. Фадеев Р.С., **Евстратова (Ломовская) Я.В.**, Кобякова М.И., Акатов В.С. Лекарственная устойчивость клеток острого миелоидного лейкоза. Роль микроокружения и клеточной "мимикрии"// Материалы конференции «Теоретическая и экспериментальная биофизика» (Пушино, Россия, 7-9 февраля 2018 г.) стр.12. ISBN 978-5-91874-022-4

5. **Евстратова (Ломовская) Я.В.**, Кобякова М.И., Фадеев Р.С., Акатов В.С., Кирсанова П.О. Исследование экспрессии TRAIL-рецепторов у макрофагоподобных клеток острого миелоидного лейкоза // Материалы 23-й Международной конференции молодых ученых «Биология - наука XXI века» (Пушино, Россия, 15-19 апреля 2019 г.)

6. **Евстратова (Ломовская) Я.В.**, Кобякова М.И., Сенотов А.С., Ломовский А.И., Акатов В.С., Фадеев Р.С. Резистентность клеток острого миелоидного лейкоза к TRAIL-индуцированному апоптозу, опосредованная адгезией к внеклеточному матриксу // Материалы XII Всероссийского симпозиума с международным участием «БИОЛОГИЧЕСКАЯ ПОДВИЖНОСТЬ» (Пушино, Россия, 17–19 мая 2019 г.)

7. **Евстратова (Ломовская) Я.В.**, М.И. Кобякова, А.И. Ломовский, А.С. Сенотов, Р.С. Фадеев. Моноцитарно-макрофагальная дифференцировка опосредует резистентность к TRAIL-индуцированному апоптозу через модулирование рецепторов к TRAIL // Материалы международной научной конференции молодых ученых «Фундаментальные исследования и инновации в молекулярной биологии, биотехнологии, биохимии.» (Алматы, Республика Казахстан, 28-29 ноября 2019 г.)

8. **Евстратова (Ломовская) Я.В.**, Кобякова М.И., Сенотов А.С., Ломовский А.И., Фадеев Р.С. Роль моноцитарно-макрофагальной дифференцировки в чувствительности клеток к trail-индуцированному апоптозу // Материалы V Всероссийской Конференции по молекулярной онкологии (Москва, Россия, 16-18 декабря 2019 г.)

9. **Евстратова (Ломовская) Я.В.**, Кобякова М.И., Сенотов А.С., Ломовский А.И., Фадеев Р.С. Мутагенная трансформация клеток острого миелоидного лейкоза в макрофагоподобный фенотип как возможный механизм защиты от иммунного надзора // Материалы отчетной годовой конференции ИТЭБ РАН, посвященной Дню Российской науки, 16-18 с. (Пушино, Россия, 5-7 февраля 2020 г.)

10. **Евстратова (Ломовская) Я.В.**, Кобякова М.И., Ломовский А.И. Исследование экспрессии FLT3 и TRAIL-рецепторов в процессе моноцитарно-макрофагальной дифференцировки клеток ОМЛ на фоне формирования устойчивости к TRAIL-индуцированному апоптозу // Материалы XXVI Всероссийской конференции молодых ученых с международным участием «Актуальные Проблемы Биомедицины -2020» (Санкт-Петербург, Россия 26-27 марта 2020 г.)

11. **Евстратова (Ломовская) Я.В.**, Кобякова М.И., Ломовский А.И., Фадеев Р.С. Макрофагоподобный фенотип клеток острого миелоидного лейкоза опосредует

устойчивость к TRAIL индуцированному апоптозу // Материалы XI Съезда онкологов и радиологов стран СНГ и Евразии (Казань, Россия 23-25 апреля 2020 г.)

12. **Евстратова (Ломовская) Я.В.**, Кобякова М.И., Ломовский А.И., Фадеев Р.С. Дифференцировка лейкозных клеток в миелоидном направлении подавляет экспрессию рецепторов DR4 и DR5 и повышает резистентность к TRAIL-индуцированному апоптозу // Сборник тезисов, Всероссийская конференция молодых ученых «Экспериментальная и теоретическая биофизика» (Россия, Пущино, 2021 г.), стр. 19.

13. **Ломовская Я.В.** Исследование фенотипа макрофагоподобных клеток острого миелоидного лейкоза и механизма их устойчивости к индукции клеточной гибели // Сборник тезисов докладов участников IV Международной научной конференции (Наука Будущего – Наука Молодых) (Россия, 17-20 ноября 2021 г.)

14. **Ломовская Я.В.**, Кобякова М.И., Ломовский А.И., Фадеев Р.С. макрофагоподобные клетки ТНР-1, полученные из клеточной культуры высокой плотности, устойчивы к TRAIL-индуцированной гибели за счет подавления DR4 и DR5/ Материалы конференции «Теоретическая и экспериментальная биофизика» (Россия, Пущино, 8-10 февраля 2022 г.) стр. 60-63.

БЛАГОДАРНОСТИ

Выражаю благодарность научному руководителю к.б.н. Фадееву Роману Сергеевичу за грамотное руководство, огромную поддержку и помощь в развитии научно-исследовательской работы.

Благодарю коллектив Лабораторий фармакологической регуляции клеточной резистентности, Тканевой инженерии и Биомедицинских технологий, а также лично к.б.н. Акатова Владимира Семёновича и к.б.н. Фадееву Ирину Сергеевну за всестороннюю помощь в выполнении диссертационной работы.