

Численный анализ терапевтического потенциала p53-зависимых микроРНК на основе лабораторных данных и минимальных математических моделей

Сенотрусова С.Д., Воропаева О.Ф.

ФИЦ ИВТ, Новосибирск, Россия

senotrusova.s@mail.ru, vorop@ict.nsc.ru

Работа посвящена практическому использованию минимальных математических моделей динамики сигнального пути p53 для описания достаточно широкого круга лабораторных экспериментов, в которых взаимодействие p53 и белков-ингибиторов p53 опосредуется микроРНК, образующими с p53 петлю положительной обратной связи. Представлены новые минимальные модели, алгоритм численного решения прямых и обратных коэффициентных задач и результаты сопоставления полученных численных решений с экспериментальными данными о динамике уровней белков p53, p21, Bax, белков-ингибиторов Mdm2, Wip1, Sirt1 и различных miR (miR-16, miR-34a, miR-192, miR-194, miR-215) в условиях стрессовых воздействий. С привлечением полученных математических моделей продемонстрированы базовые механизмы функционирования сигнального пути p53 в условиях, приближенных к условиям конкретных лабораторных экспериментов *in vitro* и *in vivo*. Показана ключевая роль p53-зависимых микроРНК в реализации некоторых гипотетических терапевтических стратегий, связанных с управлением механизмом активации апоптоза клеток. В рамках принятой базовой модели мы оценили вероятность ошибки в диагностике заболевания, основанной на анализе уровня p53-зависимых микроРНК, при слабой и умеренной дерегуляции микроРНК.

Ключевые слова: математическая модель, p53, микроРНК, положительная обратная связь.

Numerical Analysis of the Therapeutic Potential of p53-Dependent MicroRNAs Based on Laboratory Data and Minimal Mathematical Models

Senotrusova S.D., Voropaeva O.F.

FRC ICT, Novosibirsk, Russian Federation

This work presents the minimal mathematical model of the dynamics of a hypothetical system of the p53-inhibitor-miRNA type, in which the interaction of p53 and its inhibitor is mediated by miRNAs forming a positive feedback loop with p53. The aim of this work is to demonstrate how this model can be used to quantitatively describe a wide range of laboratory experiments. We present new minimal models, an algorithm for the numerical solution of direct and inverse coefficient problems, and the results of comparison of the obtained numerical solutions with experimental data on the dynamics of the levels of p53, p21, Bax proteins, inhibitors Mdm2, Wip1, Sirt1, and various miRs (miR-16, miR-34a, miR-192, miR-194, miR-215) under stress conditions. We demonstrate in numerical experiments the main mechanisms and special modes of functioning of the p53 signaling pathway. We also show the key role of p53-dependent microRNAs in the implementation of some hypothetical therapeutic strategies associated with the control of the mechanism of activation of cells apoptosis. Within the framework of the accepted basic model, we estimated the probability of an error in the diagnosis of the patient's status based on the analysis of the level of p53-dependent microRNAs, with weak and moderate deregulation of microRNAs.

Key words: mathematical model, p53, microRNA, positive feedback.

1. Введение

p53 широко известен как важный супрессор опухоли, который активируется повреждением ДНК, таким как радиация, окислительный стресс и химиотерапевтические препараты [1]. Среди множества известных функций p53 одной из

главных признается его способность препятствовать размножению клеток с дефектами ДНК через запуск программ регуляции клеточного цикла, старения и апоптоза [2]. В последние годы наиболее активно обсуждается роль p53-зависимых малых некодирующих молекул РНК (микроРНК, miR), которым отводится особое место среди

онкомаркеров. Дело в том, что надежную и точную реакцию p53 на клеточные сигналы о стрессе обеспечивает сложная система положительных и отрицательных циклов обратной и прямой связи, через которые с p53 взаимодействуют его ингибиторы – белки Mdm2, Wip1 и SIRT1, а также многочисленные семейства микроРНК. Большой интерес вызывают, в частности, действующие через ингибиторы p53 положительные обратные связи p53 с микроРНК, среди которых наиболее изученные семейства miR-16 [3, 4], miR-34 [5], miR-143/145 [6], miR-192, miR-194 и miR-215 [7], miR-221 [8]: все упомянутые микроРНК находятся в положительной зависимости от p53 и одновременно подавляют активность какого-либо белка-ингибитора p53.

В настоящей работе представлены результаты математического моделирования динамики сигнального пути белка p53, полученные на основе разработанных минимальных (малоразмерных) моделей. Эти модели предназначены для описания общих закономерностей функционирования сигнального пути p53. Одной из главных целей исследования является уточнение роли p53-зависимых микроРНК как фактора терапии и прогноза дегенеративных заболеваний в условиях, приближенных к условиям ряда конкретных лабораторных экспериментов.

2. Базовая математическая модель

В качестве базовой математической модели динамики системы p53–ингибитор–miR, на основе которой построены модели, соответствующие принятому в рамках лабораторных экспериментов уровню идеализации биологической системы, привлекается система дифференциальных уравнений с запаздывающими аргументами следующего достаточно общего вида [9, 10]:

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

$$\frac{dy_2}{dt} = b_1 + b_2 g(y_1(t - \tau_1), y_2(t - \tau_1), k_g) - b_3 y_2(t) - b_4 f(y_2(t - \tau_3), y_3(t - \tau_3), k_m) \quad (2)$$

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

Здесь y_1, y_2, y_3 – уровни p53, белка-ингибитора p53 и микроРНК, соответственно; τ_i определяют время запаздывания реакции на сигналы в молекулярной сети. Минимальная модель (1)–(3) составлена из балансных соотношений, отражающих вклад в совместную динамику системы p53–ингибитор–miR механизмов спонтанной генерации и деградации (в рамках модели эти термины подразумевают как конститутивные процессы, так и обусловленные влиянием каких-либо не описанных явно факторов), а также особо выделяемых процессов взаимного влияния элементов системы – p53-зависимой активации/генерации белка-ингибитора и

микроРНК, инактивации / деградации p53 под влиянием ингибитора, микроРНК-зависимого подавления генерации белка-ингибитора p53. В качестве основных представлений функций взаимодействия использовались кинетические модели действующих масс, Гольдбетера – Кошланда и Михаэлиса – Ментен.

Численное решение системы уравнений с запаздывающими аргументами основано на применении идеи метода шагов. Численный алгоритм и результаты методических расчетов представлены в [9–11]. На рисунке 1 можно видеть гистограмму коэффициентов относительной чувствительности решения базовой модели к 10-процентному изменению параметров.

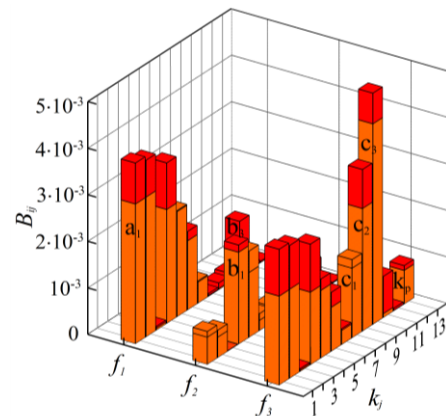


Рис. 1. Матрица коэффициентов относительной чувствительности базовой модели.

Математическое моделирование динамики сигнального пути p53 в условиях, приближенных к условиям лабораторных экспериментов, предполагает адаптацию базовой модели и решение обратной коэффициентной задачи с применением стохастического генетического алгоритма BGA [12]. Для каждой решаемой задачи проводилось от 20 до 60 равноценных запусков BGA. Оптимальный набор значений параметров определялся минимальным значением функционала, полученным для центральных 50 % наборов значений параметров этой выборки. При этом выдвигался ряд требований к решению прямой задачи, обусловленных биологическими соображениями.

3. Численный анализ функционирования p53-сети при противораковых терапевтических воздействиях

3.1. Механизм бимодального переключения динамики p53 в зависимости от уровня повреждения ДНК

В лабораторных экспериментах [13] с клетками остеосаркомы человека (линия раковых клеток U2OS с p53 дикого типа) изучалась динамика p53 и его ингибитора белка Mdm2 при воздействии на

клетку этопозидом, который вызывает повреждение ДНК и, как следствие, активацию р53-зависимого апоптоза клетки-мишени. Результаты расчетов с привлечением базовой модели показали, что, как и в лабораторных экспериментах, при отсутствии повреждения ДНК петля отрицательной обратной связи р53–Mdm2 поддерживает в клетке достаточно низкий уровень р53 (это характерно для нормальных клеток, но еще более выражено в раковых клетках с р53 дикого типа), а при наличии повреждения наблюдается переключение системы р53–Mdm2 на режим с монотонным увеличением р53 (рис. 2). В рамках принятой модели показано, что за бимодальное переключение под воздействием этопозидов в сети р53 отвечают сразу несколько механизмов – не связанные с взаимодействием р53 и Mdm2 «конститутивные» процессы активации и деградации р53, ингибирующее влияние Mdm2 на р53 и саморазрушение Mdm2. Это согласуется с выводами [13, 14], основанными на данных лабораторных наблюдений.

Анализ численных решений математической модели позволил также выдвинуть гипотезу о возможной причине возникновения двух режимов динамики р53 при воздействии слабой концентрации этопозидов: в клетках с более сильной регуляцией р53 со стороны Mdm2 после небольшого пика уровень р53 может сохраняться на достаточно низком уровне (пунктирные линии на рис. 2), а в случае более слабой регуляции возможно монотонное увеличение уровня р53 (сплошные черные линии на рис. 2), наблюдаемое, в частности, в экспериментах [13].

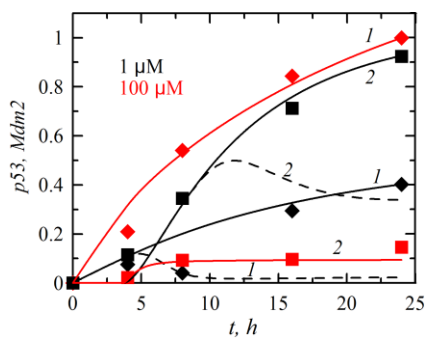


Рис. 2. Фолд-изменение уровней белков р53 и Mdm2 при воздействии этопозидов (1μМ и 100μМ). Численные решения (линии): 1 – р53, 2 – Mdm2; экспериментальные данные [13]: ромбы – р53, квадраты – Mdm2.

3.2. Динамика системы р53–Wip1–miR-16 в клетках остеосаркомы человека

Для того чтобы продемонстрировать важную роль miR-16 в регуляции мРНК и белка Wip1, который действует как критический ингибитор сигнального пути р53 при повреждении ДНК, в одном из лабораторных экспериментов [3] раковые клетки линии U2OS подвергались внешнему воздействию ионизирующим облучением с той же целью, что и в [13] – через искусственное повреждение ДНК активировать интересующий

сегмент сигнального пути р53 (этот метод широко известен как один из вариантов радиотерапии раковых клеток). Для описания этих лабораторных экспериментов [3] использовалась базовая математическая модель, а также ее модификация, включающая в себя уравнение динамики мРНК Wip1. На рисунке 3 можно видеть, что полученные численные решения достаточно хорошо согласуются с лабораторными данными: как и в [3], система р53–Wip1–miR-16 демонстрирует импульсный режим с одним всплеском уровней белков и микроРНК, при этом уровень Wip1 изменяется в противофазе с р53 и miR-16, что полностью соответствует типу их взаимосвязи. Результаты исследований базовой и модифицированной моделей подтверждают адекватность принятого в базовой модели подхода к моделированию, в основе которого лежит предположение о пропорциональности уровней мРНК и соответствующего белка.

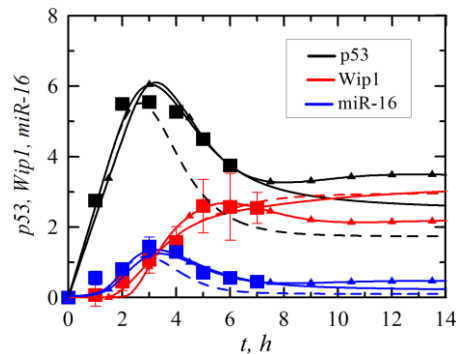


Рис. 3. Динамика системы р53–Wip1–miR-16 в раковой клетке после ее облучения: сплошные линии – базовая модель, маркированные треугольниками – модифицированная модель; квадраты – экспериментальные данные [3]. Штриховые линии – результат моделирования состояния до облучения.

Численные эксперименты показали, что только одновременное увеличение дозы облучения и усиление влияния микроРНК на Wip1 приводит к гиперактивации р53 и существенному снижению уровня Wip1, что соответствует ситуации массового запуска р53-зависимого апоптоза раковых клеток и может рассматриваться как иллюстрация синергического эффекта. Результаты численных экспериментов подтверждают выводы [3], основанные на анализе лабораторных данных: сверхэкспрессия miR-16 способствует подавлению индукции Wip1, чувствительной к повреждению ДНК, а ингибирование miR-16 заметно ускоряет и усиливает индукцию Wip1.

3.3. Динамика р53-зависимых miR-34a, -192, -194 и -215 в клетках множественной миеломы

Разработана минимальная математическая модель динамики р53 с учетом сразу нескольких микроРНК, под контролем которых находится белок-ингибитор р53. Для проверки ее адекватности

использовались экспериментальные данные [7] (рис. 4). В рамках принятой модели показано, что, как и в [7], микроРНК miR-34a, miR-192, miR-194 и miR-215, которые являются позитивными регуляторами p53, подавляются в клетках множественной миеломы, но могут быть активированы p53 и затем способны регулировать экспрессию Mdm2 (этот механизм демонстрирует наличие петли положительной обратной связи перечисленных микроРНК с p53). Показано также, что имеется прямая связь между экспрессией miR-34a, miR-194, miR-192 и miR-215 и функциональной активностью белка p21, который известен как мишень p53, регулятор программ клеточного цикла и старения.

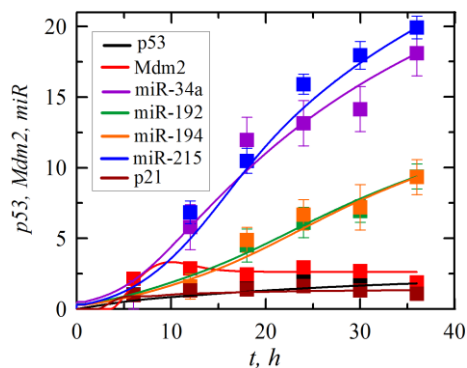


Рис. 4. Динамика системы p53–Mdm2–miR-34a–miR-192–miR-194–miR-215–p21 в раковой клетке после воздействия нутлина: маркеры – экспериментальные данные [7], линии – модель.

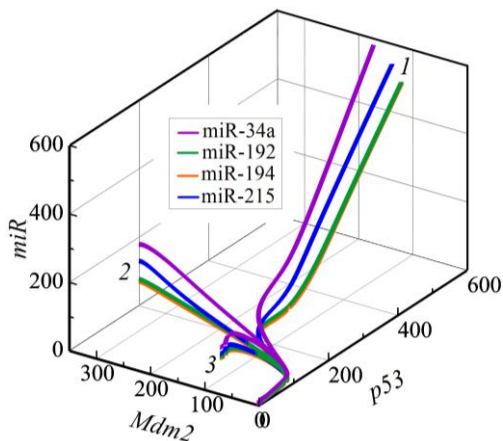


Рис. 5. Фазовые траектории численных решений, описывающих динамику системы p53–Mdm2–miR-34a–miR-192–miR-194–miR-215 в клетке множественной миеломы: 1 – совместное воздействие нутлина и микроРНК; 2 – нутлиновая терапия без учета микроРНК; 3 – модель с учетом микроРНК при отсутствии нутлина.

Результаты численных экспериментов наглядно продемонстрировали, что эффективность терапевтического воздействия нутлином находится под влиянием p53-зависимых микроРНК-ингибиторов Mdm2: микроРНК сдерживают рост уровня Mdm2, способствуя более эффективной активации сети p53. Показано (рис. 5), что только

совместное влияние этих воздействий – нутлина и микроРНК – описывает эффективную терапевтическую стратегию, основанную на запуске p53-зависимого апоптоза, что указывает на синергический эффект. Наблюдаемые в численных экспериментах тенденции соответствуют известным представлениям о функционировании сигнального пути p53 в раковой клетке с p53 дикого типа (см., например, [15]).

4. Численный анализ функционирования p53-сети в патологических процессах, связанных с массовой гибелью клеток

4.1. Ингибирование SIRT1 при оксидативном стрессе в эпителиальных клетках дыхательных путей при ХОБЛ

Оксидативный стресс считается одним из ключевых факторов в инициации процесса клеточного старения, которые отягощают патогенез хронического воспалительного заболевания легких (ХОБЛ), сердечно-сосудистых и многих других хронических заболеваний. Клеточное старение и ингибирование антиоксидантных генов регулируются белками p53, p21 и SIRT1, однако наибольший интерес вызывает оценка регуляторной функции микроРНК как одной из возможных терапевтических целей при ХОБЛ. В настоящей работе для демонстрации значимой роли p53-зависимых микроРНК используются данные лабораторных измерений [16], в которых на клетках линии BEAS2B показано, что зависящая от окислительного стресса, инициированного обработкой клеток перекисью водорода, активация miR-34a снижает экспрессию SIRT1 (белка-ингибитора p53).

Для описания функционирования системы p53–SIRT1–miR-34a использовалась базовая математическая модель, адаптированная в соответствии с содержательным смыслом задачи. Численное решение прямой задачи, соответствующее оптимальному набору параметров, достаточно хорошо согласуется с экспериментальными данными [16]. Результаты численных экспериментов показывают, что при высоком уровне оксидативного стресса наблюдается увеличение уровней p53 и miR-34a на фоне снижения уровня SIRT1. Модель описывает кратковременное повышение уровня SIRT1, которое наблюдалось также в лабораторном эксперименте через 4 часа после воздействия. Полученные данные свидетельствуют о том, что окислительный стресс модулирует экспрессию как SIRT1, так и miR-34a в эпителиальных клетках бронхов.

4.2. Дегенеративные процессы при фиброзе печени у крыс: роль пути p53–miR-34a

Известно, что следствием хронического повреждения печени является массовый апоптоз

основных клеток ткани печени – гепатоцитов, а защита гепатоцитов от апоптоза является одним из важных методов снижения уровня повреждения печени. Экспериментально установлено, что именно сигнальный путь miR-34a–SIRT1–p53 активируется при фиброзе печени, играя важную роль в апоптозе гепатоцитов, и, следовательно, он может быть перспективной терапевтической мишенью. В лабораторном эксперименте [17] исследуется динамика системы p53–SIRT1–miR-34a при фиброзе печени у крыс, который инициировали через механизм активации оксидативного стресса.

Численные решения демонстрируют близость результатов математического моделирования к экспериментальным данным (рис. 6).

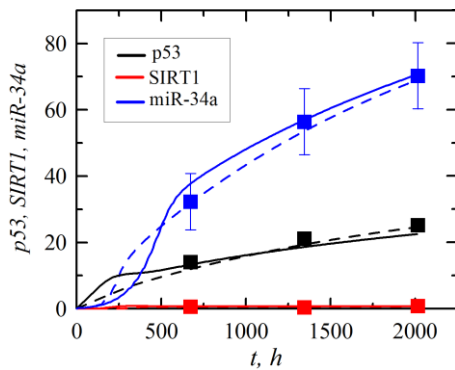


Рис. 6. Динамика системы p53–SIRT1–miR-34a при фиброзе печени у крыс: пунктирные линии – базовая модель, сплошные линии – модифицированная модель, маркеры – экспериментальные данные [17].

4.3. Активация сигнального пути p53, ассоциированная с синдромом Дауна

К наиболее значимым факторам, инициирующим гиперактивацию сигнального пути p53 при синдроме Дауна, относят оксидативный стресс, хроническое нейровоспаление, а также ранние молекулярно-клеточные признаки болезни Альцгеймера – все они существенно повышают восприимчивость нейронов к апоптозу. В лабораторных экспериментах [18] показано, что сверхактивация апоптоза при синдроме Дауна в иммортализованных клетках мозга человека и в мозге трансгенной мыши линии Ts65Dn ассоциирована именно с активацией проапоптозного сигнального пути p53–SIRT1–BAX.

Для описания функционирования системы p53–SIRT1–miR-34a использовалась та же модель, что и в п. 4.1, 4.2. Численные решения модели достаточно хорошо согласуются с экспериментальными данными [18] (рис. 7). Как и в патологическом процессе фиброза печени (п. 4.2), в случае синдрома Дауна возможной эффективной терапевтической стратегией, направленной на снижение апоптоза клеток мозга, представляется ослабление функции p53-зависимых микроРНК как регулятора SIRT1, которое приводит к снижению уровней белков-регуляторов апоптоза p53 и BAX.

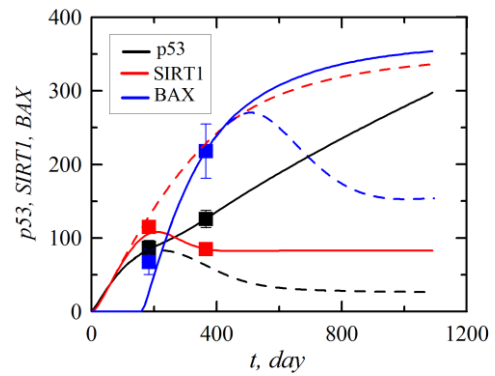


Рис. 7. Динамика системы p53–SIRT1–BAX в клетках мозга трансгенных мышей Ts65Dn: сплошные линии – численное решение модели, штриховые линии – терапевтическое воздействие; маркеры – экспериментальные данные [18].

5. Влияние дерегуляции p53-зависимых микроРНК на точность диагностики дегенеративных заболеваний

В рамках базовой модели исследован вопрос о вероятности расхождения диагностики заболевания, основанной на анализе уровня белка p53, с диагностикой на основе p53-зависимых микроРНК при слабой и умеренной дерегуляции микроРНК. Деререгуляция микроРНК моделировалась как случайное изменение параметров уравнения (3). Результаты статистического анализа численных решений указывают на то, что надежность микроРНК как маркера дегенеративных заболеваний существенно зависит от уровня дерегуляции: при весьма слабой дерегуляции наиболее вероятно (до 50%) рассогласование только в диагностике у условно здоровых пациентов. Усиление дерегуляции, даже если оно не приводит к существенному изменению функционирования биологической системы, резко повышает вероятность рассогласования в диагностике на основе микроРНК во всех состояниях, включая состояния угрозы рака и дегенерации органов (она достигает от 20 до 60%). Исследование диагностического потенциала miR-34a на примере [7, 16–17] подтвердило эти выводы. Объем статистических выборок – от 8000 до 33000.

5. Заключение

Представленный в настоящей работе цикл исследований имеет целью продемонстрировать возможности минимальных математических моделей динамики сигнального пути p53 как весьма эффективного инструмента для анализа результатов лабораторных экспериментов, в которых ключевую роль играет взаимодействие p53 и белков-ингибиторов p53, а сигнальный путь p53–микроРНК функционирует по принципу положительной обратной связи. Круг рассмотренных процессов охватывает два важнейших направления биомедицинских исследований – связанных с изучением основных закономерностей

функционирования сигнального пути p53 и с оценкой роли p53-зависимых микроРНК как ключевого регулятора и терапевтической цели при дегенеративных заболеваниях. В рамках принятых моделей продемонстрированы синергический эффект гиперактивации сигнального пути p53 и механизмы бимодального переключения. Показано, что p53-зависимые микроРНК могут играть одну из центральных ролей в повышении эффективности терапевтических стратегий, связанных с управлением процессом активации апоптоза.

6. Список литературы

1. Yamakuchi M., Lowenstein C.J. MiR-34, SIRT1 and p53: The feedback loop. *Cell Cycle*. 2009. V. 8. № 5. P. 712–715. doi: [10.4161/cc.8.5.7753](https://doi.org/10.4161/cc.8.5.7753).
2. Желтухин А.О., Чумаков П.М. Повседневные и индуцируемые функции гена p53. *Успехи биол. химии*. 2010. Т. 50. С. 447–516.
3. Zhang X., Wan G., Mlotshwa S., Vance V., Berger F.G., Chen H., Lu X. Oncogenic Wip1 phosphatase is inhibited by miR-16 in the DNA damage signaling pathway. *Cancer Res*. 2010. V. 70. P. 7176–7186. doi: [10.1158/0008-5472](https://doi.org/10.1158/0008-5472).
4. Issler M.V.C., Mombach J.C.M. MicroRNA-16 feedback loop with p53 and Wip1 can regulate cell fate determination between apoptosis and senescence in DNA damage response. *PLoS ONE*. 2017. V. 12. Article No. e0185794. doi: [10.1371/journal.pone.0185794](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185794).
5. Bommer G.T., Gerin I., Feng Y., Kaczorowski A.J., Kuick R., Love R.E., Zhai Y., Giordano T.J., Qin Z.S., Moore B.B. et al. p53-mediated activation of miRNA34 candidate tumor-suppressor genes. *Curr. Biol*. 2007. V. 17. P. 1298–1307. doi: [10.1016/j.cub.2007.06.068](https://doi.org/10.1016/j.cub.2007.06.068).
6. Zhang J., Sun Q., Zhang Z., Ge S., Han Z.G., Chen W.T. Loss of microRNA-143/145 disturbs cellular growth and apoptosis of human epithelial cancers by impairing the Mdm2–p53 feedback loop. *Oncogene*. 2013. V. 32. P. 61–69. doi: [10.1038/onc.2012.28](https://doi.org/10.1038/onc.2012.28).
7. Pichiorri F., Suh S.S., Rocci A., De Luca L., Taccioli C., Santhanam R., Zhou W., Benson D.M. Jr, Hofmainster C., Alder H. et al. Downregulation of p53-inducible microRNAs 192, 194, and 215 impairs the p53/MDM2 autoregulatory loop in multiple myeloma development. *Cancer Cell*. 2010. V. 18. P. 367–381. doi: [10.1016/j.ccr.2010.09.005](https://doi.org/10.1016/j.ccr.2010.09.005).
8. Fornari F., Milazzo M., Galassi M., Callegari E., Veronese A., Miyaaki H., Sabbioni S., Mantovani V., Marasco E., Chieco P. et al. p53/mdm2 feedback loop sustains miR-221 expression and dictates the response to anticancer treatments in hepatocellular carcinoma. *Mol. Cancer Res*. 2014. V. 12. P. 203–216. doi: [10.1158/1541-7786.MCR-13-0312-T](https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-13-0312-T).
9. Сеноотрусова, С.Д., Воропаева О.Ф. Математическое моделирование функционирования положительной связи в системе онкомаркеров p53–микроРНК. *СибЖВМ*. 2019. Т. 22. № 3. С. 325–344. doi: [10.15372/SJNM20190306](https://doi.org/10.15372/SJNM20190306).
10. Воропаева О.Ф., Лисачев П.Д., Сеноотрусова С.Д., Шокин Ю.И. Гиперактивация сигнального пути p53–микроРНК: математическое моделирование вариантов противоопухолевой терапии. *Математическая биология и биоинформатика*. 2019. Т. 14. № 1. С. 355–372. doi: [10.17537/2019.14.355](https://doi.org/10.17537/2019.14.355).
11. Воропаева О.Ф., Шокин Ю.И., Непомнящих Л.М., Сенчукова С.Р. Математическое моделирование функционирования и регуляции биологической системы p53–Mdm2. М.: Изд-во РАМН, 2014. 176 с.
12. Черный С.Г., Чирков Д.В., Лапин В.Н., Скороспелов В.А., Шаров С.В. Численное моделирование течений в турбомашиннах. Под ред. ак. Шокина Ю.И. Новосибирск: Наука, 2006. 202 с.
13. Chen X., Chen J., Gan S., Guan H., Zhou Y., Ouyang Q., Shi J. DNA damage strength modulates a bimodal switch of p53 dynamics for cell-fate control. *BMC Biology*. 2013. V. 11. Article No. 73. doi: [10.1186/1741-7007-11-73](https://doi.org/10.1186/1741-7007-11-73).
14. Yang R., Huang B., Zhu Y., Li Y., Liu F., Shi J. Variable sensitivity to DNA damaging chemotherapeutic modulated by cell type-dependent bimodal p53 dynamics. *Science Advances*. 2018. V. 4. № 12. Article No. eaat5077. doi: [10.1126/sciadv.aat5077](https://doi.org/10.1126/sciadv.aat5077).
15. Batchelor E., Mock C.S., Bhan I., Loewer A., Lahav G. Recurrent initiation: A mechanism for triggering p53 pulses in response to DNA damage. *Molecular Cell*. 2008. V. 30. № 3. P. 277–289. doi: [10.1016/j.molcel.2008.03.016](https://doi.org/10.1016/j.molcel.2008.03.016).
16. Baker J.R., Vuppusetty C., Colley T., Papaioannou A.I., Fenwick P., Donnelly L., Ito K., Barnes P.J. Oxidative stress dependent microRNA-34a activation via PI3Kα reduces the expression of sirtuin-1 and sirtuin-6 in epithelial cells. *Sci. Rep*. 2016. V. 6. Article No. 35871. doi: [10.1038/srep35871](https://doi.org/10.1038/srep35871).
17. Tian X-F, Ji F-J, Zang H-L, Cao H. Activation of the miR-34a/SIRT1/p53 signaling pathway contributes to the progress of liver fibrosis via inducing apoptosis in hepatocytes but not in HSCs. *PLoS ONE*. 2016. V. 11. № 7. Article No. e0158657. doi: [10.1371/journal.pone.0158657](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158657).
18. Tramutola A., Pupo G., Domenico F. D., Barone E., Arena A., Lanzillotta C., Brokeart D., Blarzino C., Head E., Butterfield D A., Perluigi M. Activation of p53 in down syndrome and in the Ts65Dn mouse brain is associated with a pro-apoptotic phenotype. *J. Alzheimers Dis*. 2016. V. 52. № 1. P. 359–371. doi: [10.3233/JAD-151105](https://doi.org/10.3233/JAD-151105).