

## ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОМБИНАЦИИ БОРТЕЗОМИБА И ТЕМОЗОЛОМИДА НА ПОДКОЖНЫХ PDX-МОДЕЛЯХ ГЛИОБЛАСТОМЫ ЧЕЛОВЕКА

Росторгуев Э.Е.<sup>1</sup>, Кит О.И.<sup>1</sup>, Гончарова А.С.<sup>1</sup>, Волкова А.В.<sup>1</sup>, Непомнящая Е.М.<sup>1</sup>, Заикина Е.В.<sup>1</sup>, Ходакова Д.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФБГУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии», Ростов-на-Дону, e-mail.ru: onko-sekretar@mail.ru

Глиобластомы являются одними из самых сложных для терапии опухолями головного мозга. Неудовлетворительные клинические эффекты стандартного лечения определяют необходимость разработки новых терапевтических стратегий. Одним из возможных вариантов улучшения результатов лечения глиобластом может стать использование ингибиторов протеасом. Бортезомиб, являющийся ингибитором протеасом, показал выраженное противоопухолевое действие на этапе испытаний *in vitro* на различных моделях солидных злокачественных опухолей, что дает основания для проведения дальнейших исследований эффективности бортезомиба при лечении глиальных опухолей *in vivo*. PDX (patient-derived xenograft)-модели характеризуются многообразием клеточных субклонов, поэтому считаются наиболее надежным инструментом для прогнозирования терапевтических ответов. В работе было проведено исследование противоопухолевой эффективности бортезомиба, темозоломида и их комбинации в отношении подавления роста подкожных PDX-глиобластом человека. 20 мышам линии Balb/c Nude имплантировали подкожно перевиваемый штамм глиобластомы человека для получения PDX-модели глиобластомы. Темозоломид, бортезомиб и комбинацию темозоломида с бортезомибом вводили внутривентриально ежедневно в течение 21 дня. Гистотип опухоли подтверждался при помощи гистологического исследования (окрашивание гематоксилином и эозином). Противоопухолевый эффект определяли по торможению роста опухоли (ТРО%), объему опухолевых узлов и индексу прироста опухоли. К завершению эксперимента значения объемов подкожных ксенографтов и индексов прироста опухоли как в группах с монотерапией темозоломидом и бортезомибом, так и с комбинированным воздействием темозоломидом и бортезомибом были статистически значимо ниже, чем соответствующие параметры в контрольной группе. Наибольшее значение торможения роста опухоли (ТРО%) было зафиксировано в группе с воздействием комбинации темозоломида с бортезомибом, что составило 85,38%. В группах с монотерапией темозоломидом и бортезомибом наблюдались значения ТРО 57,32% и 63,11% соответственно. Исследования противоопухолевой эффективности комбинации бортезомиба и темозоломида на подкожных PDX-глиобlastомах человека указывают на наличие синергичного действия этих препаратов.

Ключевые слова: глиобластома, глиальные опухоли, бортезомиб, темозоломид, исследования *in vivo*, PDX-модель, ксенографт, трансплантация.

## STUDY OF ANTITUMOR EFFICACY OF BORTEZOMIB COMBINED WITH TEMOZOLOMIDE IN SUBCUTANEOUS PDX MODELS OF HUMAN GLIOBLASTOMA

Rostorguev E.E.<sup>1</sup>, Kit O.I.<sup>1</sup>, Goncharova A.S.<sup>1</sup>, Volkova A.V.<sup>1</sup>, Nepomnyashchaya E.M.<sup>1</sup>, Zaikina E.V.<sup>1</sup>, Khodakova D.V.<sup>1</sup>

Federal State Budgetary Institution «National Medical Research Centre for Oncology» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Rostov-on-Don, e-mail.ru: onko-sekretar@mail.ru

Glioblastomas are among the most challenging brain tumors. Unsatisfactory clinical effects of standard treatment require the development of new therapeutic strategies. Proteasome inhibitors are one of the possible options for improving the results of glioblastoma treatment. Bortezomib – one of the proteasome inhibitors – has shown a pronounced antitumor effect during the *in vitro* testing in various models of solid malignant tumors, which gives grounds for further studies of the bortezomib efficacy in the treatment for glial tumors *in vivo*. PDX (patient-derived xenograft) models are characterized by a variety of cell subclones and are therefore considered the most reliable tool for predicting therapeutic responses. We analyzed the antitumor efficacy of bortezomib, temozolomide and their combination in suppressing the growth of human subcutaneous PDX-glioblastomas. Subcutaneously transplanted human glioblastoma strain was implanted in 20 Balb/c Nude mice to create a PDX glioblastoma model. Temozolomide, bortezomib and their combination were injected intraperitoneally daily during 21 days. The tumor histotype was confirmed by histological examination (hematoxylin and eosin staining). Antitumor effect was assessed by the inhibition of tumor growth (ITG%), volumes of tumor nodes and

the tumor growth index. By the end of the experiment, subcutaneous xenograft volumes and the tumor growth indices in the groups receiving temozolomide or bortezomib monotherapy, as well as in the temozolomide+bortezomib group, were statistically significantly lower than the corresponding values in the control group. The highest ITG% value was registered in the temozolomide+bortezomib group (85.38%); the values in groups with temozolomide and bortezomib monotherapy were 57.32% and 63.11%, respectively. **Studies of the antitumor efficacy of the bortezomib and temozolomide combination in human subcutaneous PDX-glioblastomas demonstrate a synergistic effect of these drugs.**

Keywords: glioblastoma, glial tumors, bortezomib, temozolomide, *in vivo* studies, PDX-model, xenograft, transplantation.

Глиобластомы – это опухоли, поражающие центральную нервную систему и являющиеся одними из самых сложных для терапии злокачественными новообразованиями. Пациенты с этим диагнозом, как правило, страдают от плохого качества жизни и имеют неутешительный прогноз. Хотя в лечении глиобластом были достигнуты некоторые успехи, общие клинические эффекты все еще разочаровывают.

Стандартные терапевтические процедуры, направленные на лечение пациентов с глиобластомой, на сегодняшний день представляют собой максимальную хирургическую резекцию в сочетании с адъювантной лучевой терапией и/или химиотерапией темозоломидом [1, 2]. Тем не менее рецидивы опухоли из-за инфильтративных клеток, оставшихся по краю резекции, а также вследствие врожденной или индуцированной резистентности к темозоломиду неизбежны, что приводит к неудовлетворительной выживаемости (медиана около 14 месяцев) [2, 3]. Как следствие, необходимы прогресс в понимании механизмов лекарственной устойчивости к темозоломиду и поиск новых терапевтических мишеней для улучшения стандартов лечения этой фатальной опухоли.

Одним из возможных вариантов таких мишеней является убиквитин-протеасомная система, играющая важную роль в регуляции роста и выживания клеток. Известно, что злокачественные клетки более чувствительны к протеасомному торможению, чем обычные, что дает повод рассматривать ингибиторы протеасом (ИП) в качестве лекарственных средств, обладающих противоопухолевым эффектом [4, 5].

Первым одобренным FDA ингибитором протеасом стал препарат «Бортезомиб», рекомендуемый для лечения мантийноклеточной лимфомы и множественной миеломы [6]. В дальнейших работах был показан выраженный противоопухолевый эффект этого препарата на различных моделях солидных злокачественных опухолей как *in vitro*, так и *in vivo*, что доказывало обоснованность концепции, предлагающей использование системы «убиквитин – протеасома» в качестве мишени для лечения рака и применение ИП в качестве противоопухолевых средств [7, 8]. Кроме того, рядом авторов бортезомиб был описан и как ингибитор HIF-1  $\alpha$ , что также можно рассматривать как один из возможных механизмов реализации антитуморогенного эффекта [9, 10]. Абберантное функционирование протеасомной системы, а также активация сигнального пути HIF-1  $\alpha$ , характерные для клеток

глиальных опухолей, позволяют предположить, что бортезомиб может быть потенциально полезен при лечении глиобластом [11-13].

В ряде публикаций была продемонстрирована клеточная гибель после воздействия бортезомиба и его комбинации с бевацизумабом на резистентные к темозоломиду клеточные линии глиомы D54, U251 и U87 [13, 14]. Положительный результат, полученный на этапе испытаний *in vitro*, диктует необходимость проведения дальнейших комплексных исследований химиотерапевтической роли бортезомиба в лечении глиальных опухолей.

Тем не менее многие перспективные соединения, показавшие весьма обнадеживающие результаты на стадии тестирования *in vitro*, могут демонстрировать низкую клиническую эффективность на последующих этапах исследований, что может быть связано с недостаточной достоверностью и надежностью доклинических моделей [15].

Классическим объектом для оценки новых методов терапии являются подкожные (гетеротопические) ксенотрансплантаты клеточных линий – CDX (cell line xenograft), полученные при помощи подкожного введения клеточных культур мышам с ослабленным иммунитетом.

Использование клеточных линий позволяет выполнять тестирование препаратов с большой скоростью и высокой степенью воспроизводимости результатов, однако ксенографты культурального происхождения имеют ряд недостатков: они не в состоянии имитировать гетерогенность и микроархитектурные особенности реальных опухолей [15]. Для преодоления этих недостатков была разработана модель ксенотрансплантата, полученного в результате имплантации опухолевого материала, взятого непосредственно от пациента, – PDX (patient-derived xenograft). PDX, или, как их еще называют, пациентоподобные ксенографты, характеризуются многообразием клеточных субклонов, поэтому являются более надежной моделью для прогнозирования терапевтических ответов.

Целью работы явилось проведение исследования противоопухолевой эффективности бортезомиба, темозоломида и их комбинации в отношении подавления роста подкожных PDX-глиобластом человека.

## **Материал и методы исследования**

### *Лабораторные животные и их содержание*

Исследование выполнили на 20 самках иммунодефицитных мышей линии Balb/c Nude в возрасте 5–6 недель. Животные были получены из «SPF-вивария» ИЦиГ СО РАН (г. Новосибирск) и являлись носителями SPF-статуса. В течение эксперимента мышей содержали в SPF-зоне вивария Испытательного лабораторного центра в системе IVC в помещении с контролируемыми параметрами микроклимата (температура 22–26°C, относительная влажность воздуха 50–60%, световой режим день/ночь по 12 часов) в

условиях свободного доступа к корму и воде, предварительно стерилизованным автоклавированием. Эвтаназия животных производилась методом дислокации шейных позвонков. Исследование проводили, соблюдая «Правила проведения работ с использованием лабораторных животных».

#### *Опухолевый материал*

Для создания подкожных ксенографтов был использован полученный в ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России перевиваемый штамм глиобластомы человека. Первичный опухолевый материал был взят от пациента с диагнозом «глиобластома правой височной доли головного мозга (grade IV, объем опухоли 44×55×35 мм)». От пациента было получено письменное согласие на передачу биологического материала.

#### *Создание подкожной PDX-модели глиобластомы*

Исследования противоопухолевой эффективности тестируемых препаратов выполняли на четвертой генерации PDX-глиобластомы. Для получения четвертой генерации подкожных ксенографтов глиобластомы была выполнена имплантация фрагмента опухолевого ксенографта третьей генерации размером 3×3×3 мм под кожу правого бедра животных-реципиентов. Имплантацию выполняли с применением инъекционной анестезии для лабораторных животных, используя ветеринарные препараты «Ксила» и «Золелил-100» в дозировках 20 мг/кг и 50 мг/кг соответственно.

#### *Распределение животных по группам, исследуемые препараты, дозы, способы и режимы введения исследуемых препаратов*

Животные были поделены на 4 группы:

- группа 1 – темозоломид (n=5);
- группа 2 – бортезомиб (n=5);
- группа 3 – темозоломид + бортезомиб (n=5);
- группа 4 – контроль (n=5).

В качестве критерия распределения по группам использовали размер опухолевого узла на момент начала введения препарата –  $100 \pm 20\%$  мм<sup>3</sup>. Животные были распределены по группам так, чтобы разброс средних значений объема опухолевых узлов между группами был минимальным. Исследуемые препараты: темозоломид, бортезомиб, комбинация темозоломида с бортезомибом. Исследуемые дозы: для темозоломида – 5 мг/кг, для бортезомиба – 0,25 мг/кг. Способ введения препаратов – внутривентрально, вещество-носитель – физиологический раствор в объеме 200 мкл для каждого введения. Кратность введения препаратов – 1 раз в день. Контрольной группе с той же кратностью, что и тестируемые препараты, вводили физиологический раствор в объеме 200 мкл. Длительность введения 21 сутки, длительность наблюдения – 26 суток после первого введения препаратов.

### *Анализ роста опухолевых ксенографтов*

Измерения опухолевых узлов выполняли 2 раза в неделю при помощи штангенциркуля, их размеры рассчитывали по формуле Шрека для эллипсоида –  $V=a \times b \times c \times \pi/6$ , где  $V$  – объем опухоли ( $\text{мм}^3$ ),  $a$ ,  $b$ ,  $c$  – максимальные диаметры эллипсоида в трех плоскостях ( $\text{мм}$ ).

### *Оценка противоопухолевой эффективности препаратов и их комбинации*

Критериями эффективности исследуемых препаратов и их комбинации являлись показатель торможения роста опухоли (ТРО%) и индекс прироста опухоли ( $I$ ), которые вычисляли по формулам:

$$\text{ТРО (\%)} = \frac{V_k - V_0}{V_k} * 100,$$

где  $V_k$  и  $V_0$  – средний объем опухоли ( $\text{мм}^3$ ) в контрольной и опытных группах соответственно;

$$I_i = V_i/V_0,$$

где  $I$  – индекс прироста опухоли,  $i$  – сутки эксперимента,  $V_0$  – объем опухоли в день начала лечения.

### *Гистологическое исследование*

Опухолевые фрагменты фиксировали в 10%-ном формалине в течение 24 ч, затем заключали в парафин. После этого готовили микросрезы, которые окрашивали гематоксилином и эозином по стандартной методике. Проводили гистологическое исследование донорской и ксеногенных опухолей.

### *Статистический анализ*

Полученные экспериментальные данные были обработаны статистически с помощью пакета программ STATISTICA 8.0. Различия между группами оценивались с использованием критерия Манна–Уитни.

### **Результаты исследования и их обсуждение**

Для проведения исследования противоопухолевой эффективности бортезомиба, темозоломида и их комбинации в отношении подавления роста подкожных PDX-глиобластом человека нами была проведена серийная имплантация опухолевого фрагмента PDX третьей генерации под кожу иммунодефицитным мышам линии Balb/c Nude для получения модели PDX-глиобластомы четвертой генерации.

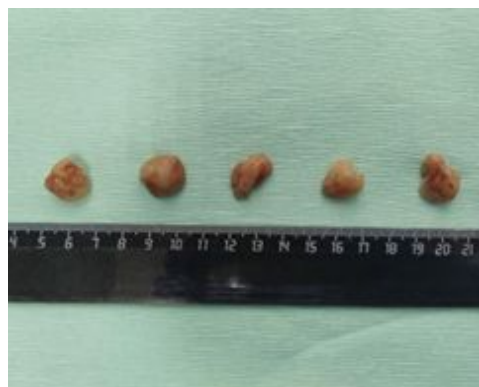
В течение всего срока исследования осуществляли наблюдение за животными-реципиентами, включающее еженедельный клинический осмотр и выполнение линейных размеров подкожных ксенографтов. После последнего прижизненного измерения объемов

ксенографтов животные были подвергнуты эвтаназии, также были выполнены выделение и фотофиксация опухолевых узлов (рис. 1).

Результаты проведения последнего прижизненного измерения объемов опухолевых узлов показали, что среднее значение объемов ксенографтов контрольной группы составило 1746,3 мм<sup>3</sup>, а средние значения объемов ксенографтов в группах с воздействием темозоломидом, бортезомибом и комбинацией темозоломида и бортезомиба были статистически значимо меньше объемов ксенографтов контрольной группы и составили 745,3±57,3 мм<sup>3</sup> (p<0,05), 644,27±67,3 мм<sup>3</sup> (p<0,05) и 255,3±30,3 мм<sup>3</sup> (p<0,001) соответственно.



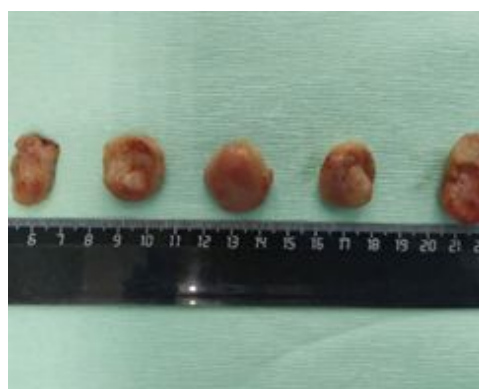
А



Б



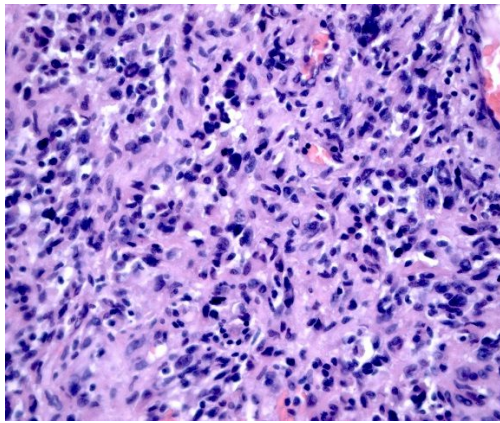
В



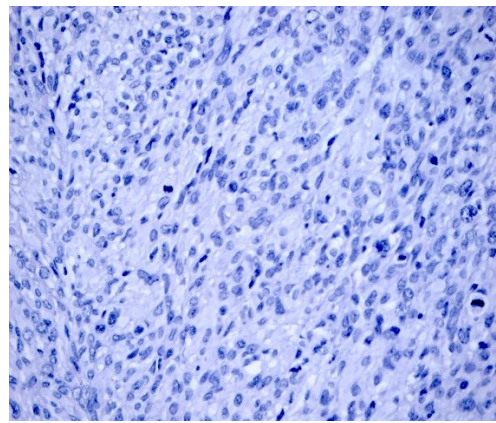
Г

*Рис. 1. Вид выделенных опухолевых узлов глиобластомы. А – Опухолевые узлы группы 1 (темозоломид); Б – Опухолевые узлы группы 2 (бортезомиб); В – Опухолевые узлы группы 3 (темозоломид + бортезомиб); Г – Опухолевые узлы группы 4 (контроль)*

Биоматериал пациента (фрагмент донорской опухоли) и подкожные опухолевые узлы, полученные в результате ксенотрансплантации, по данным гистологических исследований был охарактеризован как глиобластома (рис. 2).



А



Б

*Рис. 2. Гистологические препараты глиобластомы. А – Опухоль пациента (донорская опухоль). Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 400$ ; Б – Подкожный ксенографт (опухолевый узел), 4-я генерация. Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 400$*

Оценка динамики роста опухолевых узлов показала, что значения объемов подкожных ксенографтов и индекса прироста опухоли в группе с воздействием темозоломидом и в группе с воздействием бортезомибом были статистически значимо меньше в сравнении с контрольной группой на протяжении всего срока эксперимента, начиная с 12-х суток от начала введения препаратов ( $p < 0,05$ ).

В группе с комбинированным воздействием темозоломидом и бортезомибом значения объемов подкожных ксенографтов и индекса прироста опухоли были статистически значимо ниже, чем таковые в контрольной группе, начиная с 12-х суток от начала введения препаратов ( $p < 0,05$ ). К окончанию эксперимента эти различия стали более заметны, значения объемов ксенографтов и индекс прироста опухоли группы с комбинированным воздействием темозоломидом и бортезомибом были ниже почти в 7 раз, чем соответствующие параметры контрольной группы ( $p < 0,001$ ).

Экспериментальные данные, характеризующие динамику показателя индекса прироста опухоли в этих группах, приведены на рисунке 3.

## Индекс прироста опухоли

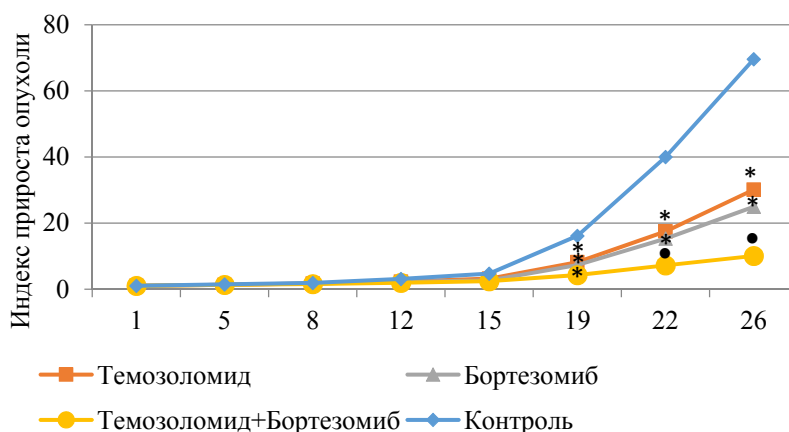


Рис. 3. Динамика изменения индекса прироста опухоли в группах с воздействием темозоломидом, бортезомибом, комбинацией темозоломида и бортезомиба и в контрольной группе

Примечание:

\* – статистически значимые различия между экспериментальными группами с воздействием темозоломидом, бортезомибом, комбинацией темозоломида и бортезомиба и контрольной группой по критерию Манна–Уитни ( $p < 0,05$ );

• – статистически значимые различия между экспериментальной группой с воздействием комбинацией темозоломида и бортезомиба и контрольной группой по критерию Манна–Уитни ( $p < 0,001$ ).

На момент окончания эксперимента был вычислен показатель торможения роста опухоли (ТРО%). Данные представлены на рисунке 4.

Наибольшее значение ТРО было зафиксировано в группе с воздействием комбинацией темозоломида и бортезомиба, оно составило 85,38%. Более низкие значения ТРО наблюдались в группе с воздействием темозоломидом и в группе с воздействием бортезомибом, что составило 57,32% и 63,11% соответственно.

## Торможение роста опухоли

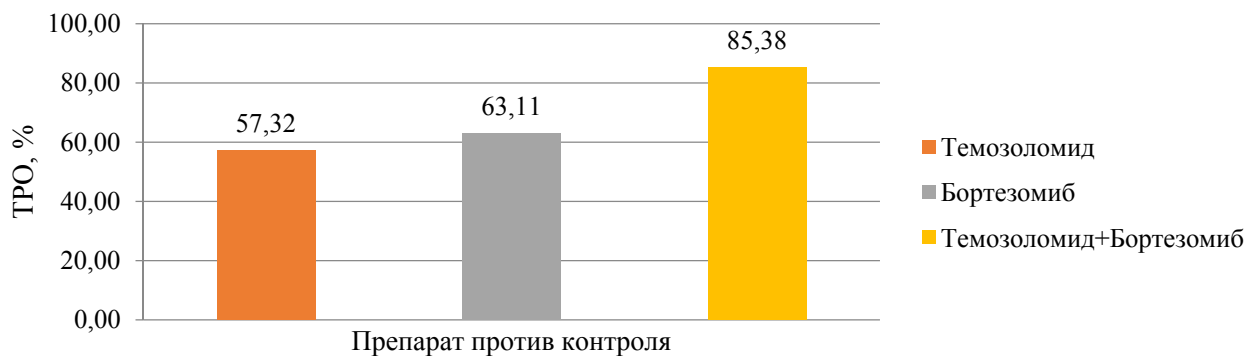


Рис. 4. Показатели ТРО для экспериментальных групп с воздействием темозоломидом, бортезомибом и комбинацией темозоломида и бортезомиба



Полученные в ходе проделанной работы результаты позволяют предположить наличие синергичного противоопухолевого эффекта темозоломида и бортезомиба в отношении PDX-глиобластомы человека.

Одним из возможных механизмов достижения выраженного противоопухолевого эффекта при воздействии комбинации темозоломида и бортезомиба может являться способность ИП влиять на белок Об-метилгуанинметилтрансфераза (MGMT), фермент репарации ДНК, который, как считается, вносит вклад в формирование резистентности к темозоломиду. В исследованиях *in vitro* было показано подавление MGMT в клеточных линиях глиобластомы при воздействии сочетанием темозоломида и бортезомиба [7].

Наши данные также согласуются с результатами работы J.H. Tang et al. (2019), в которой при помощи МТТ-теста было продемонстрировано, что воздействие комбинации этих препаратов приводило к снижению выживаемости клеток и получению более высоких показателей ингибирования пролиферации, чем действие этих препаратов по отдельности [13]. Кроме того, в том же исследовании была показана почти полная регрессия подкожных ксенографтов культуральной клеточной линии глиобластомы человека U87. В нашей работе не наблюдалось такого ярко выраженного эффекта, несмотря на использование препаратов в тех же дозах и режимах введения. Причина этого расхождения, как мы полагаем, кроется в принципиальных различиях CDX и PDX.

Ксенографты, созданные при помощи линий опухолевых клеток или CDX, являются хорошо описываемой и быстрой с точки зрения временных затрат в эксперименте моделью, но вследствие клональной селекции, процесса, возникающего в ходе адаптации клеточных культур к росту на пластике, модели культурального происхождения не воспроизводят весь спектр биологического разнообразия, наблюдающегося среди человеческих опухолей, а также уступают им в гистологической, генетической и эпигенетической гетерогенности [15]. Этим отчасти можно объяснить высокий процент неудовлетворительных результатов клинических испытаний препаратов-кандидатов, которые показали прекрасную эффективность на этапе тестирования на клеточных культурах *in vitro* и *in vivo*.

Для решения этой проблемы в ряде биомедицинских центров наблюдается тенденция к проведению доклинических исследований на более надежных в плане точности предсказания терапевтического ответа PDX-моделях, а также ведутся работы по созданию библиотек ксенотрансплантатов солидных опухолей, в том числе и глиобластом, с использованием хирургических образцов пациентов [15].

Также немаловажным является тот факт, что полномасштабное тестирование лекарственных средств при помощи PDX становится все более обыденным явлением при определении молекулярных мишеней среди большого количества опухолевых популяций.

Полученные нами результаты являются подтверждением того факта, что подобный подход позволяет с большей точностью и надежностью определять ответ на терапию и избегать излишне оптимистичных прогнозов относительно эффективности исследуемого кандидата.

### **Заключение**

Результаты, полученные в ходе нашего исследования противоопухолевой эффективности комбинации бортезомиба и темозоломида на подкожных PDX-глиобластомах человека, указывают на наличие синергичного действия этих препаратов. Тем не менее отсутствие тотальной регрессии опухолевых узлов и не в полной мере изученные механизмы действия бортезомиба и его комбинации с темозоломидом делают необходимым проведение дальнейших работ по выявлению целевой категории пациентов, для которых эта терапевтическая стратегия принесла бы максимальную пользу.

### **Список литературы**

1. Braun K., Ahluwalia S. Treatment of glioblastoma in older adults. *Current oncology reports*. 2017. vol. 19. no 12. P. 81. DOI: 10.1007/s11912-017-0644-z.
2. Lu V., Jue T., McDonald K. Toni R. Jue, Kerrie L., Rovin R.A. The survival effect of repeat surgery at glioblastoma recurrence and its trend: a systematic review and meta-analysis. *World neurosurgery*. 2018. vol. 115. P. 453-459. DOI: 10.1016/j.wneu.2018.04.016.
3. Tykocki T., Eltayeb M. Ten-year survival in glioblastoma. A systematic review. *Journal of Clinical Neuroscience*. 2018. vol. 54. P. 7-13. DOI: 10.1016/j.jocn.2018.05.002.
4. Johnson D. The ubiquitin–proteasome system: opportunities for therapeutic intervention in solid tumors. *Endocrine-related cancer*. 2015. vol. 22. no 1. P. T1-T17. DOI: 10.1530/ERC-14-0005.
5. Teicher B., Tomaszewski J. Proteasome inhibitors. *Biochemical pharmacology*. 2015. vol. 96. no 1. P. 1-9. DOI: 10.1016/j.bcp.2015.04.008.
6. Gandolfi S., Laubach J., Hideshima T., Chauhan D., Kenneth C., Richardson A.G. The proteasome and proteasome inhibitors in multiple myeloma. *Cancer and Metastasis Reviews*. 2017. vol. 36. no 4. P. 561-584. DOI: 10.1007/s10555-017-9707-8.
7. Manasanch E., Orlowski R. Proteasome inhibitors in cancer therapy. *Nature reviews Clinical oncology*. 2017. vol. 14. no 7. P. 417. DOI: 10.1038/nrclinonc.2016.206.
8. Roeten M., Cloos J., Jansen G. Positioning of proteasome inhibitors in therapy of solid malignancies. *Cancer chemotherapy and pharmacology*. 2018. vol. 81. no 2. P. 227-243. DOI: 10.1007/s00280-017-3489-0.

9. Onnis B., Rapisarda A., Melillo G. Development of HIF• 1 inhibitors for cancer therapy. *Journal of cellular and molecular medicine*. 2009. vol. 16. no 2. P. 2780-2786. DOI: 10.1111/j.1582-4934.2009.00876.x.
10. Park K., Lee H.E., Lee S.H., Lee D., Lee T., Lee M.Y. Molecular and functional evaluation of a novel HIF inhibitor, benzopyranyl 1, 2, 3-triazole compound. *Oncotarget*. 2017. vol. 8: no 5. P. 7801. DOI: 10.18632/oncotarget.13955.
11. Bota D. A., Alexandru D., Keir ST., Bigner D. Proteasome inhibition with bortezomib induces cell death in GBM stem-like cells and temozolomide-resistant glioma cell lines, but stimulates GBM stem-like cells' VEGF production and angiogenesis. *Journal of neurosurgery*. 2013. vol. 119. no 6. P. 1415-1423. DOI: 10.3171/2013.7.JNS1323.
12. Кит О.И. Пушкин А.А. Росторгуев Э.Е., Тимошкина Н.Н., Кузнецова Н.С., Кавицкий С.Э., Нальгиев А.М. Дифференциальная экспрессия 15-ти генов в глиальных опухолях различной степени злокачественности // *Современные проблемы науки и образования*. 2019. № 5. URL: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=29039> (дата обращения 23.09.2020). DOI: 10.17513/spno.29039.
13. Tang J. H., Yang L., Chen Ju-H., Li Q-R., Zhu Lu-R., Xu Q-F., Huang G-H, Zhang Z-X., Xiang Y., Du L., Zhou Z., Lv S-Q. Bortezomib inhibits growth and sensitizes glioma to temozolomide (TMZ) via down-regulating the FOXM1–Survivin axis. *Cancer Communications*. 2019. vol 39: no 1. P. 81. DOI: 10.1186/s40880-019-0424-2.
14. Zaky W., Manton C., MillerPM., Khatua S., Gopalakrishnan V., Chandra J. The ubiquitin-proteasome pathway in adult and pediatric brain tumors: biological insights and therapeutic opportunities. *Cancer and Metastasis Reviews*. 2017. vol. 36. no 4 P. 617-633. DOI: 10.1007/s10555-017-9700-2.
15. Gould S., Junttila M., de Sauvage F. Translational value of mouse models in oncology drug development. *Nature medicine*. 2015. vol. 21. no 5 P. 431. DOI: 10.1038/nm.3853.