

*Е.С. Колегова<sup>1</sup>, И.В. Кондакова<sup>1</sup>, А.А. Завьялов<sup>1,2</sup>*

## **Малые белки теплового шока и убиквитин-протеасомная система при злокачественных опухолях**

<sup>1</sup>Томский НИИ онкологии,  
<sup>2</sup>ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России, Томск

Для функционирования и адекватного биологического ответа опухолевых клеток на изменяющиеся условия необходимо поддерживать сохранность клеточного протеома, что обеспечивается работой шаперонов и энергозависимых протеаз. Молекулярные шапероны, в число которых входят малые белки теплового шока, осуществляют фолдинг, рефолдинг, и мисфолдинг протеинов, поддерживают функциональную активность внутриклеточных белков, а протеазы, главным образом, протеасомы, деградируют аномальные, поврежденные и выполнившие свою функцию белки. В обзоре представлены современные данные о роли протеасомной системы и белков теплового шока при злокачественных новообразованиях, а также механизм взаимодействия этих систем в клетке.

**Ключевые слова:** клеточная подвижность, малые белки теплового шока (мБТШ), протеасомы, злокачественные новообразования, метастазирование

Опухолевые клетки характеризуются возрастающими потребностями в обмене белков и интенсификации внутриклеточных процессов, направленных на приобретение и реализацию основных, присущих им свойств: способности самостоятельно и в достаточной мере обеспечивать себя ростовыми сигналами, нечувствительностью к антиростовым сигналам, уклонению от апоптоза, неограниченному пролиферативному потенциалу, способности к неоангиогенезу, а также к инвазии и метастазированию [19]. Канцерогенез и последующая опухолевая прогрессия возможны при эффективной регуляции количества и функций многих белков, обеспечивающих эти процессы. Для сохранности клеточного протеома, нормального функционирования клеток и регуляции их биологического ответа существует система контроля качества белков, включающая молекулярные шапероны и энергозависимые протеазы, представленные, главным образом, протеасомами [5,6].

Класс шаперонов делится на конститутивные белки, синтез которых не зависит от стрессовых воздействий на клетки, и индуцибельные или

белки теплового шока - БТШ (the heat shock proteins – Hsp), синтез которых резко увеличивается при стрессовых воздействиях, таких как изменения условий окружающей среды, метаболические или физиологические изменения [5,16].

Все белки теплового шока имеют доменную организацию, а важным их свойством является способность образовывать крупные олигомерные комплексы с молекулярной массой от 100 до 5000 кДа в условиях стресса (в то время как их собственный размер составляет до 100 кДа) и предотвращать агрегацию частично денатурированных белков в клетке [5,16]. Помимо агрегации неправильно свернутых или частично развернутых белков, основными биологическими функциями белков теплового шока являются коррекция структуры и конформации других белков, повторная сборка денатурированных белков, разворачивание нативных белковых субстратов для транслокации их через мембраны, а также белковых мономеров для их последующей деградации [5].

По молекулярной массе белки теплового шока разделяют на большие и малые. Группа больших БТШ в наибольшей степени изучена. К этой группе относятся Hsp60, Hsp70, Hsp90 и Hsp100 с молекулярными массами 60, 70, 90 и 100 кДа, соответственно. Шапероны семейства Hsp60–Hsp100 значительно различаются по структуре, но все они обладают АТФ-азной активностью, которая важна для увеличения сродства и скорости связывания белков-мишеней. Крупные белки теплового шока часто осуществляют свою функцию в присутствии кошаперонов и других специализированных белков. Например, фолдинг белков системой шаперона HSP 70 включает в себя сам белок теплового шока HSP 70, а также кошаперон HSP 40 и факторы нуклеотидного обмена, которые совместно или поочередно образуют временные комплексы с растущим во время трансляции белком и защищают его от внутриклеточных протеиназ и неспецифической агрегации [5].

Малые БТШ, такие как HSP10, HSP 22 HSP 27 (HSPB1), HSP B2, HSP B3 ( $\alpha$ A-кристаллин), HSP B4 ( $\alpha$ B-кристаллин), HSP B7, не обладают АТФ-азной активностью и содержат в своем

составе консервативный С-концевой домен [15]. Малые БТШ, выполняя свои шаперонные функции, участвуют в стабилизации белков цитоскелета, вовлечены в клеточный цикл, апоптоз, ангиогенез, а также транспортировку рецепторов на мембрану клетки, что представляется важным применительно к изучению злокачественных новообразований [16].

Показано, что малые белки теплового шока могут находиться как в клетке, так и во внеклеточном пространстве в составе экзосом [17]. Циркулирующие малые БТШ принимают участие в стресс-сигналинге, ангиогенезе, клеточной миграции и регуляции иммунной системы [16]. Фосфорилирование протеинкиназами малых белков теплового шока, таких как HSP 20, 22, 27 и  $\alpha$ B-кристаллин, особенно в условиях стресса, позволяет им участвовать в апоптозе, клеточном цикле и дифференцировке: они «деградируют» циклин D, который играет важную роль в G1/S-переходе клеточного цикла и повышенно экспрессируется в раковых клетках [16,20].

В дополнение, HSP 27 и  $\alpha$ B-кристаллин предотвращают TNF $\alpha$ -стимулированный апоптоз [12], а при взаимодействии с проапоптотическими молекулами в клетке, такими как Bax и Bcl-Xs ингибируют их передвижение к митохондриям.  $\alpha$ B-кристаллин может взаимодействовать с некоторыми каспазами, например связывать про-каспазу-3 [16].  $\alpha$ B-кристаллин увеличивает количество глутатиона в клетке, чем косвенно способствует предотвращению клеточной смерти, вызванной оксидативным стрессом [21]. Таким образом, антиапоптотическое и цитопротективное действие малых белков теплового шока может быть использовано раковыми клетками для выживания.

Биологической особенностью злокачественных новообразований является опухолевая прогрессия, характеризующаяся инвазивным ростом и метастазированием. Согласно современным представлениям, главную роль в приобретении опухолевыми клетками метастатического фенотипа играет реорганизация цитоскелета, которая осуществляется актинсвязывающими белками [1]. Короткие БТШ могут взаимодействовать с компонентами цитоскелета и, таким образом, влиять на его пространственно-временную организацию. HSP 27 и  $\alpha$ B-кристаллин взаимодействуют с промежуточными филаментами и стабилизируют их.  $\alpha$ B-кристаллин ассоциирован с актинсвязывающими белками и является шапероном для тубулина, десмина, кофилина. Кроме того, HSP 27 и  $\alpha$ B-кристаллин могут связываться и стабилизировать F-актин, таким образом предотвращая его деполимеризацию. HSP B2, HSP B3, HSP B7 обеспечивают целостность

миофибрилл [16]. Вероятно, способность малых белков теплового шока влиять на подвижность опухолевых клеток является свидетельством участия БТШ в метастазировании.

На клеточной культуре пигментного эпителия сетчатки было показано, что  $\alpha$ B-кристаллин связывает VEGF-A и участвует в фолдинге и секреции данной молекулы, а следовательно ассоциирован с опухолевым неоангиогенезом и возникновением метастазов [22]. Так, было показано, что снижение экспрессии  $\alpha$ B-кристаллина в карциномах головы и шеи приводит к снижению как секреции сигнального белка VEGF, так и клеточной подвижности [26].

Повышенная экспрессия  $\alpha$ B-кристаллина ассоциирована с резистентностью опухоли к химиотерапии при раке молочной железы [16]. Во время гипертермии короткие белки теплового шока могут взаимодействовать с развернутыми протеинами в районе их гидрофобных участков и препятствовать дальнейшей агрегации белков [33]. Впоследствии, протеины, окруженные белками теплового шока, могут подвергаться либо реактивации, либо деградации убиквитин-протеасомной протеолитической системой клетки [16]. Протеиназы в настоящее время рассматриваются не только в качестве ферментов, разрушающих клеточные белки, но и в качестве основных участников регуляторных процессов, отвечающих за сохранность клеточного протеома [6,7].

Протеасома является мультикаталитическим мультисубъединичным комплексом. Каталитические комплексы протеасомной системы представлены двумя пулами: 20S- и 26S-протеасомы. Они отличаются строением, молекулярной массой и коэффициентом седиментации. Ядро протеасомы представляет собой полый цилиндр, образованный четырьмя лежащими друг на друге кольцами. Каждое из них состоит из семи белковых субъединиц, причем периферические кольца сформированы субъединицами а-типа, а два центральных – b-типа. Канал внутри цилиндра, расширяясь, образует три камеры: большую центральную и две меньшие, по краям. В центральной камере и осуществляется протеолиз. Субъединицы а-кольца за счет своих гидрофобных участков закрывают отверстие в центральный канал и препятствуют случайному проникновению белков в протеолитическую камеру. Кроме того, эти же субъединицы отвечают за присоединение других высокомолекулярных комплексов, которые регулируют работу протеасомы [10].

26S протеасома в своем составе содержит каталитическую сердцевину 20S пула, необходимую для протеолиза белков и две АТФ-содержащих регуляторных частиц 19S. Регуляторный 19S комплекс представлен в виде активаторов проте-

асом (РА 700 и РА28). 26S протеасом осуществляет АТФ- и убиквитин-зависимый протеолиз большинства клеточных белков, а малый белок теплового шока  $\alpha$ B-кристаллин является частью комплекса, участвующего в полиубиквитинировании молекулы, подлежащей протеолитическому расщеплению [24].

Если же в роли регуляторной частицы выступает другой белок (РА28, РА200), то такая ассоциация представляет собой активированную 20S протеасому. Малые белки теплового шока могут помогать 20S протеасоме деградировать меченые белки в отсутствие 19S регуляторного комплекса или системы убиквитинирования [29].

При определенных условиях протеолитические субъединицы  $\beta$ 1,  $\beta$ 2,  $\beta$ 5 конститутивных 20S протеасом могут заменяться на иммунные (индуцибельные) LMP2, MECL1 и LMP7, соответственно. Иммунные протеасомы расщепляют белки до пептидов, некоторые из которых являются антигенными эпитопами. Эти антигены встраиваются в щель Бьёркмана в структуре HLA-I. Данный комплекс выходит на мембрану клетки, где происходит его презентация для Т-лимфоцитов и развитие иммунного ответа. Было отмечено, что малые белки теплового шока могут поставлять мутантные белки на протеасомную систему для дальнейшей их презентации на мембране клетки [13,14]. При злокачественных процессах предполагается участие иммунных субъединиц протеасом в неиммунных процессах, в частности, в инвазии опухолей. Так, в эксперименте на клеточных линиях продемонстрировано участие LMP2 субъединицы протеасом наряду с внеклеточными протеазами - матриксными металлопротеиназами 2, 9 в инвазии трофобласта, деградации экстрацеллюлярного матрикса и ангиогенезе [32].

Возникновение и развитие злокачественных новообразований связано с активацией пролиферации, ингибированием процесса апоптоза, нарушением клеточного цикла, а также модификации выработки факторов роста, что в свою очередь связано с функционированием протеасомной системы [7,28], так как эффективная регуляция количества и функции многих белков зависит и от процессов, связанных с их деградацией. Протеасомная система принимает участие в разрушении многих регуляторных белков, в том числе молекул путей передачи сигналов от ростовых факторов и, частично, их рецепторов и транскрипционных факторов, осуществляет протеолиз белков, превращает неактивные белки-предшественники в активные, участвует в презентации комплекса гистосовместимости I типа, регулирует транскрипцию генов [30].

Убиквитин-протеасомная система может играть важную роль не только в стимуляции

пролиферации, но и в приобретении трансформированными клетками невосприимчивости к антиростовым сигналам, деградируя наравне с каспазами белок гена ретинобластомы pRb (retinoblastoma protein) и разрушая многие компоненты сигнального пути, опосредованного TGF- $\beta$ , важного рост-ингибирующего цитокина [18].

Другим значимым для канцерогенеза процессом, в регуляции которого принимает участие убиквитин-протеасомная система, является апоптоз. Многие ядерные белки, опосредующие программируемую клеточную гибель, являются субстратами для протеасом: транскрипционные факторы (c-Fos, c-Myc, AP-1), опухолевый супрессор p53, ингибитор NF- $\kappa$ B, белки клеточного цикла, белки семейства Bcl-2, белки, контролирующие активность каспаз (IAPs) и участвующие в проведении проапоптотического сигнала (cFLIP) [9].

Регуляторные белки могут выступать в роли либо проапоптогенных белков или же, наоборот, антиапоптогенных. Пример подобных превращений – белок p53, уровнем которого поддерживается в здоровой клетке соотношение между процессами роста и апоптоза. В результате присоединения к p53 убиквитиновой цепочки, данный белок становится субстратом для протеасомной деградации. При его ускоренном разрушении клетка продвигается по пути злокачественного перерождения [10].

В настоящее время общепризнано участие протеиназ в метастазировании: они осуществляют деградацию экстраклеточного матрикса, разрушают адгезивные межклеточные контакты и индуцируют ангиогенез. Протеасомы участвуют в деградации белков актинового цитоскелета, в том числе актинсвязывающих белков, таких как филамины, гельзолин и кофилин [34]. Существуют данные об активном участии протеасом в деградации некоторых белков, играющих важную роль в процессе метастазирования, таких как бета-катенин [4,25].

В целом, продемонстрирована важная роль убиквитин-протеасомной системы и малых белков теплового шока в развитии опухолей различных локализаций, их связь с ростом, инвазией и метастазированием раковых клеток [2,3,9,11,23,27,31]. Так, в исследовании A. Wang et al. было показано, что при плоскоклеточных карциномах головы и шеи нарушение регуляции экспрессии HSP 27 связано с метастазированием опухоли и прогрессированием заболевания, а высокие значения этого малого белка теплового шока коррелируют с высокой общей выживаемостью [31]. При колоректальном раке, наоборот, была отмечена ассоциация высоких значений HSP 27 с низкой безрецидивной и

общей выживаемостью [27]. При раке легких снижение  $\alpha$ B-кристаллина в клетках карциномы сочетается со снижением количества циркулирующих опухолевых клеток и ингибирует появление метастазов, но не оказывает влияния на рост первичной опухоли [23]. Отмечено увеличение активности и количества регуляторных субъединиц протеасом в тканях рака молочной железы, эндометрия, почки, мочевого пузыря, желудка, плоскоклеточных карцином головы и шеи и колоректального рака, увеличение содержания иммунных субъединиц при раке эндометрия, желудка и колоректальном раке [2,3,8]. Кроме того, было выявлено увеличение активности протеасомной системы при больших размерах опухолей молочной железы и опухолях с обширным лимфогенным метастазированием [11].

Таким образом, с одной стороны, малые белки теплового шока повышают стресс-резистентность опухолевых клеток, а также стимулируют рост и метастазирование, обеспечивая фолдинг и рефолдинг белковых молекул, участвующих в клеточной пролиферации. Убиквитин-протеасомная система может стимулировать опухолевый рост и метастазирование, регулируя количество и функции рецепторов, ростовых и транскрипционных факторов, участвуя в регуляции пролиферативной активности, ингибировании апоптоза, стимуляции неоангиогенеза. Тем не менее, с другой стороны, малые БТШ совместно с протеасомной системой могут способствовать развитию противоопухолевых иммунных реакций, усиливая презентацию опухолевых антигенов на мембране для лимфоцитов.

Подводя итог проведенному анализу данных литературы, можно заключить, что, хотя функция белков теплового шока и убиквитин-протеасомной системы в нормальных и опухолевых клетках достаточно хорошо изучена, однако, в целом, их взаимодействие и функционирование в развитии опухолей заслуживает дальнейшего анализа. Комплексное исследование компонентов системы, отвечающей за сохранность клеточного протеома, помогло бы глубже изучить патогенез злокачественных новообразований и создать новые подходы к прогнозированию течения этих заболеваний и их лечению.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Бочкарева Н.В., Кондакова И.В., Коломиец Л.А. Роль актинсвязывающих белков в клеточном движении в норме и при опухолевом росте // Мол. медицина. - 2011. - № 6. - С. 14-18.
- Кондакова И.В., Спирина Л.В., Шашова Е.Е. и др. Активность протеасом в опухолях женской репродуктивной системы // Биоорг. химия. - 2012. - Т. 38. - № 1. - С. 106.
- Кондакова И.В., Спирина Л.В., Коваль В.Д. и др. Химотрипсинподобная активность и субъединичный состав протеасом в злокачественных опухолях человека // Мол. биология. - 2014. - Т. 48. - № 3. - С. 444.
- Кондакова И.В., Юнусова Н.В., Спирина Л.В. и др. Связь активности внутриклеточных протеиназ с содержанием локомоторных белков в тканях первичных опухолей и метастазах при раке яичников // Биоорг. химия. - 2014. - Т. 40. - № 6. - С. 735.
- Мельников Э.Э., Ротанова Т.В. Молекулярные шапероны // Биоорг. химия. - 2010. - № 3. - С. 412-419.
- Ротанова Т.В., Мельников Э.Э. АТФ-зависимые протеиназы и протеолитические комплексы внутриклеточной деградации белков // Биомед. химия. - 2008. - Т. 54. - № 5. - С. 512-530.
- Спирина Л.В., Кондакова И.В. Роль внутриклеточного специфического протеолиза в онкогенезе // Вопр. онкол. - 2008. - Т. 54. - № 6. - С. 690-694.
- Спирина Л.В., Кондакова И.В., Уснин Е.А. и др. Активность протеасом в тканях злокачественных опухолей различных локализаций // Сиб. онкол. журнал. - 2009. - № 5. - С. 49-52.
- Цимоха А.С. Протеасомы: участие в клеточных процессах // Цитология. - 2010. - Т. 52. - № 4. - С. 277-300.
- Шарова Н.П. Протеасомы в судьбе злокачественной опухоли // Природа. - 2008. - № 5. - С. 20-26.
- Шашова Е.Е., Кондакова И.В., Слонимская Е.М. и др. Изменение химотрипсинподобной и каспазоподобной активностей протеасом в зависимости от степени распространенности рака молочной железы // Сиб. онкол. журнал. - 2013. - № 5 (59). - С. 45-49.
- Adhikari A.S., Singh B.N., Rao S.K., Rao C.M. B-crystallin, a small heat shock protein, modulates NF- $\kappa$ B activity in a phosphorylation-dependent manner and protects muscle myoblasts from TNF- $\alpha$  induced cytotoxicity // Biochim. Biophys. Acta. - 2011. - Vol. 1813. - P. 1532-1542.
- D'Agostino M., Lemma V., Chesi G. et al. The cytosolic chaperone  $\alpha$ -crystallin B rescues folding and compartmentalization of misfolded multispan transmembrane proteins // J. Cell Sci. - 2013. - Vol. 126. - P. 4160-4172.
- Ahner, X. Gong, B.Z. Schmidt, K.W. et al. Small heat shock proteins target mutant cystic fibrosis transmembrane conductance regulator for degradation via a small ubiquitin-like modifier-dependent pathway // Mol. Biol. Cell. - 2013. - Vol. 24. - P. 74-84.
- Arrigo A.P., Simona S., Giberta B. et al. Hsp27 (HspB1) and  $\alpha$ B-crystallin (HspB5) as therapeutic targets // FEBS Lett. - 2007. - Vol. 581(19). - P. 3665-3674.
- Bakthisaran R., Tangirala R., Rao C.M. Small heat shock proteins: Role in cellular functions and pathology // Biochim. Biophys. Acta. - 2015. - Vol. 1854 (4). - P. 291-319.
- Gangalum R.K., Atanasov I.C., Zhou Z.H., Bhat S.P. AlphaB-crystallin is found in detergent-resistant membrane microdomains and is secreted via exosomes from human retinal pigment epithelial cells // J. Biol. Chem. - 2011. - Vol. 286. - P. 3261-3269.
- Glasgow E. Transforming growth factor-beta signaling and ubiquitinators in cancer // Endocrine-Related Cancer. - 2008. - Vol. 15. - P. 59-72.
- Hanahan D., Weinberg R.A. The hallmarks of cancer // Cell. - 2000. - Vol. 100 (1). - P. 57-70.

20. Hu R., Aplin A.E. AlphaB-crystallin is mutant B-RAF regulated and contributes to cyclin D1 turnover in melanocytic cells // *Pigment Cell Melanoma Res.* - 2010. - Vol. 23 (2). - P. 201-209.
21. Jeong W.J., Rho J.H., Yoon Y.G. et al. Cytoplasmic and nuclear anti-apoptotic roles of  $\alpha$ B-crystallin in retinal pigment epithelial cells // *PLoS One.* - 2012. - Vol. 7 (9). - e45754.
22. Kase S., He S., Sonoda S. AlphaB-crystallin regulation of angiogenesis by modulation of VEGF // *Blood.* - 2010. - Vol. 115 (16). - P. 3398-3406.
23. Malin D., Strelakova E., Petrovic V. et al. ERK-regulated  $\alpha$ B-crystallin induction by matrix detachment inhibits anoikis and promotes lung metastasis in vivo // *Oncogene.* - 2015. - Vol. 10. - P. 1038.
24. Miller J., Gordon C. The regulation of proteasome degradation by multi-ubiquitin chain binding proteins // *FEBS Lett.* - 2005. - Vol. 579 (15). - P. 3224-3230.
25. Senthivayagam S., Mishra P., Paramasivam S.K. et al. Caspase-mediated cleavage of beta-catenin precedes drug-induced apoptosis in resistant cancer cells // *J. Biol. Chem.* - 2009. - Vol. 284 (20). - P. 13577-13588.
26. van de Schootbrugge C., Bussink J., Span P.N. et al. B-crystallin stimulates VEGF secretion and tumor cell migration and correlates with enhanced distant metastasis in head and neck squamous cell carcinoma // *BMC Cancer.* - 2013. - Vol. 13. - P. 128-135.
27. Schweiger T., Nikolowsky C., Starlinger P. et al. Stromal expression of heat-shock protein 27 is associated with worse clinical outcome in patients with colorectal cancer lung metastases // *PLoS One.* - 2015. - Vol. 10(3). - e0120724.
28. Sharova N., Zakharova L. Multiple forms of proteasomes and their role in tumor fate // *Recent Patents on Endocrine, Metabolic & Immune Drug Discovery.* - 2008. - Vol. 2 (3). - P. 152-161.
29. Sixt S.U., Beiderlinden M., Jennissen H.P., Peters J. Extracellular proteasome in the human alveolar space: a new housekeeping enzyme? // *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* - 2007. - Vol. 292 (5). - P. 1280-1288.
30. Spirina L.V., Kondakova I.V., Choyzonov E.L. et al. Expression of vascular endothelial growth factor and transcription factors HIF-1, NF- $\kappa$ B expression in squamous cell carcinoma of head and neck; association with proteasome and calpain activities // *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* - 2013. - Vol. 139 (4). - P. 625-633.
31. Wang A, Liu X, Sheng S et al. Dysregulation of heat shock protein 27 expression in oral tongue squamous cell carcinoma // *BMC Cancer.* - 2009. - Vol. 9. - P. 167.
32. Wang H.X., Wang H.M., Lin H.Y. et al. Proteasome subunit LMP2 is required for matrix metalloproteinase-2 and -9 expression and activities in human invasive extravillous trophoblast cell line // *J. Cell Physiol.* - 2006. - Vol. 206. - P. 616-623.
33. Weeks S.D., Baranova E.V., Heirbaut M. et al. Molecular structure and dynamics of the dimeric human small heat shock protein HSPB6 // *J. Struct. Biol.* - 2014. - Vol. 185 (3). - P. 342-354.
34. Yoo Y., Ho H.J., Wang C., Guan J.L. Tyrosine phosphorylation of cofilin at Y68 by v-Src leads to its degradation through ubiquitin-proteasome pathway // *Oncogene.* - 2010. - Vol. 29 (2). - P. 263-272.

*E.S.Kolegova<sup>1</sup>, I.V.Kondakova<sup>1</sup>, A.A.Zavialov<sup>1,2</sup>*

### **Small heat shock proteins and the ubiquitin-proteasome system in malignant tumors**

<sup>1</sup>Research Institute of Oncology  
<sup>2</sup>Siberian State Medical University  
 Tomsk

It is necessary to maintain the safety of the cell proteome for the operation and adequate biological response of tumor cells to changing conditions, which is provided by chaperones and ATP-dependent proteases. Molecular chaperones, which include the small heat shock proteins, carry out folding, refolding and misfolding of proteins, support functional activity of intracellular proteins. Proteases, mainly proteasome, degrade abnormal, damaged and fulfilling its function proteins. The review presents modern data on the role of the proteasome and heat shock proteins in malignant tumors as well as the mechanism of interaction of these systems in the cell.

Key words: cell motility, small heat shock proteins (sHsp), proteasomes, tumors, metastasis

Поступила в редакцию 26.10.2015 г.