

ОСОБЕННОСТИ РЕДОКС-РЕГУЛЯЦИИ В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ

Николай Константинович ЗЕНКОВ¹, Петр Михайлович КОЖИН¹,
Александра Васильевна ВЧЕРАШНЯЯ², Григорий Григорьевич МАРТИНОВИЧ²,
Наталья Валерьевна КАНДАЛИНЦЕВА³, Елена Брониславовна МЕНЬЩИКОВА¹

¹ *НИИ экспериментальной и клинической медицины ФИЦ фундаментальной и трансляционной медицины
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2*

² *Белорусский государственный университет
220030, г. Минск, просп. Независимости, 4*

³ *Новосибирский государственный педагогический университет
630126, г. Новосибирск, ул. Виллюйская, 28*

Проведен анализ эндогенных механизмов продукции активированных кислородных метаболитов (АКМ: активные формы кислорода и азота) и систем антиоксидантной защиты в опухолевых клетках. Повышенная продукция АКМ является важным регулятором метаболических изменений в этих клетках: усиленная пролиферация, ингибирование апоптоза, устойчивость к гипоксии и действию цитостатиков (доксорубин, карбоплатина, цисплатина и др.). Наиболее активными источниками АКМ в опухолевых клетках выступают митохондрии, NAD(P)H-оксидазы и пероксисомы, которые синтезируют $O_2^{\cdot -}$ и H_2O_2 . В митохондриях супероксидный анион-радикал генерируется главным образом комплексами I и III; мембранные NAD(P)H-оксидазы Nox1, Nox2, Nox3 и Nox5 продуцируют $O_2^{\cdot -}$, Nox4 и двойные оксидазы DUOX-1, DUOX-2 – преимущественно H_2O_2 . Повышение стационарной концентрации АКМ активирует эндогенные механизмы антиоксидантной защиты, такие как редокс-зависимая система антиоксидант-респонсивного элемента Keap1/Nrf2/ARE и аутофагия, это позволяет опухолевым клеткам выживать в условиях окислительного стресса и может лежать в основе устойчивости к радио- и химиотерапии. Обсуждены возможности регуляции редокс-баланса опухолевых клеток антиоксидантами с направленным действием и специфическими ингибиторами ферментативных механизмов продукции АКМ.

Ключевые слова: активированные кислородные метаболиты (АКМ), антиоксиданты, митохондрии, NAD(P)-H-оксидазы, опухоль.

Источники образования активированных кислородных метаболитов (АКМ, активные формы кислорода и азота) в клетках млекопитающих можно разделить на внешние (радиация, ультрафиолет, поллютанты и др.) и внутриклеточные (митохондрии, пероксисомы, NAD(P)H-оксидазы и др.) [38]. АКМ модулируют активность многих факторов транскрипции, киназ и фосфатаз, поэтому важны для регуляции клеточной пролиферации, дифференцировки и апоптоза [45].

Поскольку гиперпродукция АКМ является причиной развития окислительного стресса и может индуцировать гибель клеток посредством апоптоза или некроза [53], в физиологических условиях их генерация поддерживается на низком уровне многокомпонентной системой антиоксидантов, среди которых особое место занимают ферментативные (супероксиддисмутазы, каталаза, пероксидазы и др.), прямо инактивирующие АКМ, а также низкомолекулярные (глутатион, аскорбат,

Зенков Н.К. – д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярных механизмов свободнорадикальных процессов, e-mail: lemen@centercem.ru

Кожин П.М. – старший научный сотрудник лаборатории молекулярных механизмов свободнорадикальных процессов, e-mail: kozhinpm@gmail.com

Вчерашняя А.В. – младший научный сотрудник кафедры биофизики, e-mail: tuata_de_danann@mail.ru

Мартинович Г.Г. – д.б.н., зав. кафедрой биофизики, e-mail: martinovichgg@bsu.by

Кандалинцева Н.В. – к.х.н., директор Института естественных и социально-экономических наук, e-mail: aqiarphenol@mail.ru

Меньщикова Е.Б. – д.м.н., зав. лабораторией молекулярных механизмов свободнорадикальных процессов, e-mail: lemen@centercem.ru

витамин Е и др.), которые выступают донорами электронов в окислительно-восстановительных реакциях [44]. Многочисленными исследованиями показано, что в опухолевых клетках повышена продукция АКМ, которые рассматриваются как важный регулятор метаболических изменений в этих клетках [76]. На разных стадиях прогрессии опухоли роль АКМ и окислительного стресса различна, что затрудняет проведение терапии, в том числе направленной на регуляцию редокс-баланса в клетках [26, 38]. На начальном этапе онкогенеза АКМ дестабилизируют геном и индуцируют мутации, что может быть причиной опухолевой трансформации клеток; так, ультрафиолетовый свет является одной из важнейших причин меланом кожи [61], а поллютанты табачного дыма – бронхогенной карциномы [30]. В дальнейшем повышенный уровень генерации АКМ необходим опухолевым клеткам для активной пролиферации и защиты в условиях гипоксии. Исследования применения антиоксидантных препаратов для профилактики и лечения онкологических заболеваний дают очень противоречивые результаты [11, 90]. При моделировании на животных рака легкого, меланомы показано, что N-ацетилцистеин и тролокс усиливают прогрессирование и метастазирование опухоли [60]. Сегодня нет единой точки зрения на роль АКМ при злокачественных новообразованиях [38]. Если на начальной стадии антиоксиданты тормозят опухолевую трансформацию клеток, то на более поздней стадии могут провоцировать метастазирование и развитие химиорезистентности опухолевых клеток [39]. В настоящем обзоре рассмотрены механизмы развития окислительного стресса при опухолевых процессах и новые подходы к их коррекции.

Митохондрии. В большинстве клеток млекопитающих митохондрии являются основным потребителем молекулярного кислорода (до 95 %), при этом они часто выступают и главными внутриклеточными продуцентами АКМ, образующихся в результате функционирования как

дыхательной цепи, так и митохондриальных оксидоредуктаз [3]. Применение различных ингибиторов и субстратов окисления позволяет идентифицировать в составе митохондрий не менее 10 ферментов и структурных элементов, способных синтезировать АКМ. Наиболее эффективными участками наработки $O_2^{\bullet-}$ в митохондриях являются комплекс I дыхательной цепи (NADH-убихинооксидоредуктаза, КФ 7.1.1.2, систематическое название «NADH:убихинонредуктаза (H^+ -транслоцирующая)») и комплекс III (убихинол-цитохром *c*-оксидоредуктаза, КФ 1.10.2.2, систематическое название «хинол-цитохром *c*-редуктаза») (рис. 1).

Комплекс I – первое звено окислительного фосфорилирования в митохондриях, у млекопитающих он включает 45 полипептидов общей молекулярной массой около 970 кДа, семь белков комплекса кодируются митохондриальной ДНК [3, 88]. В состав NADH-дегидрогеназного комплекса входят один флавиновый моноклеотид, восемь железосерных кластеров и несколько белков, связывающих коэнзим Q. Некоторые исследователи считают, что в нормальных условиях комплекс I электрон-транспортной цепи является главным источником образования $O_2^{\bullet-}$ в митохондриях [79, 88]. В основе такого мнения лежит факт существенного снижения продукции органеллами супероксид-аниона под действием ротенона (ингибитор комплекса I). Элементами, ответственными за восстановление O_2 в составе комплекса I, могут быть флавиновый кофермент, принимающий электроны от NADH, не относящийся к основной цепи внутрибелкового переноса электронов железосерный центр N1a или участки связывания убихинона. Восстановление кислорода на комплексе I цепи переноса электронов в наибольшей степени определяется градиентом pH на внутренней мембране и в меньшей степени – мембранным потенциалом. Максимальная продукция $O_2^{\bullet-}$ наблюдается в условиях индукции обратного транспорта электронов с комплекса III на комплекс I – в частности, в условиях гипоксии

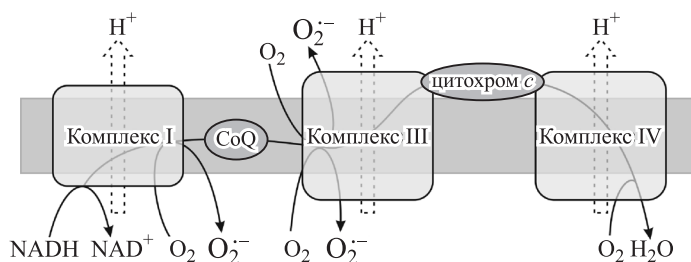
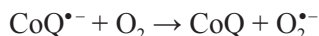


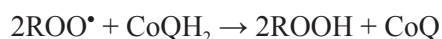
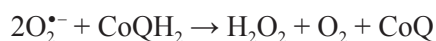
Рис. 1. Главные участки образования $O_2^{\bullet-}$ в дыхательной цепи митохондрий

[79]. Образующийся на комплексе I супероксид-анион мигрирует в матрикс митохондрий. Сегодня разработаны различные ингибиторы комплекса I, которые проявляют противоопухолевый эффект [88]; противодиабетический препарат метформин ингибирует комплекс I и снижает пролиферативную активность опухолевых клеток [92].

Окисляясь и восстанавливаясь в процессе транспорта электронов, убихинон может образовывать семихиноновые радикалы ($\text{CoQ}^{\bullet-}$), способные восстанавливать молекулярный кислород с образованием $\text{O}_2^{\bullet-}$:



При этом в восстановленном состоянии убихинон ингибирует супероксидный анион-радикал, восстанавливая его до H_2O_2 , также как и другие органические радикалы (2ROO^{\bullet}):



Таким образом, в митохондриях коэнзим Q является как основным прооксидантом, так и важным антиоксидантом. По некоторым оценкам с участием убихинона образуется 70–80 % продуцируемого митохондриями $\text{O}_2^{\bullet-}$ [93]. Поэтому в последние годы активно разрабатываются новые ингибиторы комплекса III и продукции АКМ, которые могут быть перспективными в терапии опухолей [73].

Считается, что продукция АКМ митохондриями опухолевых клеток необходима для интенсивной клеточной пролиферации [35]; посредством стабилизации HIF- α (hypoxia-inducible transcription factor α) они способствуют адаптации к гипоксии, а также отвечают за эффект Варбурга, т.е. тенденцию большинства раковых клеток производить энергию преимущественно с помощью анаэробного гликолиза с последующим образованием молочной кислоты [42]. Во многих исследованиях показано, что усиление продукции АКМ митохондриями активирует аутофагию [58], индуцирует выход ионов кальция из митохондрий и эндоплазматического ретикулума [46], посредством окисления киназы ASK1 (apoptosis signaling kinase 1) ингибирует апоптоз [35], повышает радио- и химиорезистентность опухолевых клеток [34]. Одним из важных механизмов уменьшения содержания митохондрий и генерации АКМ является митофагия. Противомаларийный препарат артесунат связывается с митохондриями, понижает мембранный потенциал и усиливает митофагию [96].

Присоединение липофильной катионной группы к активным в антиоксидантном отноше-

нии фрагментам α -токоферола, убихинона и других фенолов, витамина С позволило получить соединения, которые в клетках преимущественно транспортируются в митохондрии (рис. 2) [2, 52]. Как известно, митохондрии имеют отрицательный потенциал от -130 до -170 мВ, поэтому значительная часть (90–95 %) внутриклеточных липофильных катионов локализуется внутри этих органелл. Цитоплазматическая мембрана также имеет отрицательный потенциал от -30 до -60 мВ, что способствует проникновению катионов внутрь клеток. Для направленного транспорта в митохондрии в последние годы были предложены другие катионы, а также митохондриально-ассоциированные пептиды [16, 90].

Антиоксиданты, сочетающие в своей структуре хромановое ядро токоферола («митовитамин Е»), фенольную группу убихинола («митохинол») или ресвератрола с трифенилфосфониевой катионной группой, накапливаются в митохондриях в концентрациях, превышающих их содержание в крови в 100–500 раз [19]. Присоединение трифенилфосфониевой группы к метформину усиливает его антипролиферативное действие в отношении опухолевых клеток поджелудочной железы в 1000 раз [25]. Значительное (в 25–50 раз) увеличение цитотоксичности куркумина для клеток немелкоклеточного рака легкого получено при присоединении катионных групп [50]. Витамин Е с направленным на митохондрии действием оказывал токсическое и антипролиферативное действие в отношении клеток рака молочной железы разных линий, а также ингибировал рост перевиваемой опухоли у мышей [24]. Редокс-активный митохинол был в 30 раз более токсичен для клеток аденокарциномы молочной железы, чем для первичных эпителиальных клеток, при этом отмечалась активация фактора транскрипции Nrf2 и ингибирование аутофагии [75]. Антипролиферативный эффект выявлен для SkQ1 на клетках фибросаркомы [86] и митохинона в отношении клеток меланомы [47]. На модели аденокарциномы поджелудочной железы [17] и индуцированного бенз(а)пиреном канцерогенеза [1] показано, что SkQ1 ингибирует метастазирование и тормозит рост опухоли, но не влияет на выживаемость животных. Следует отметить, что эффект антиоксидантов существенно зависит не только от их структуры и локализации, но и от типа опухоли и начала терапии. Так, на модели химического гепатоканцерогенеза у мышей растворимые антиоксиданты (N-ацетилцистеин и тролокс) подавляли формирование гепатоклеточной карциномы, в то время как митохондриально направленные антиоксиданты – усиливали [90].

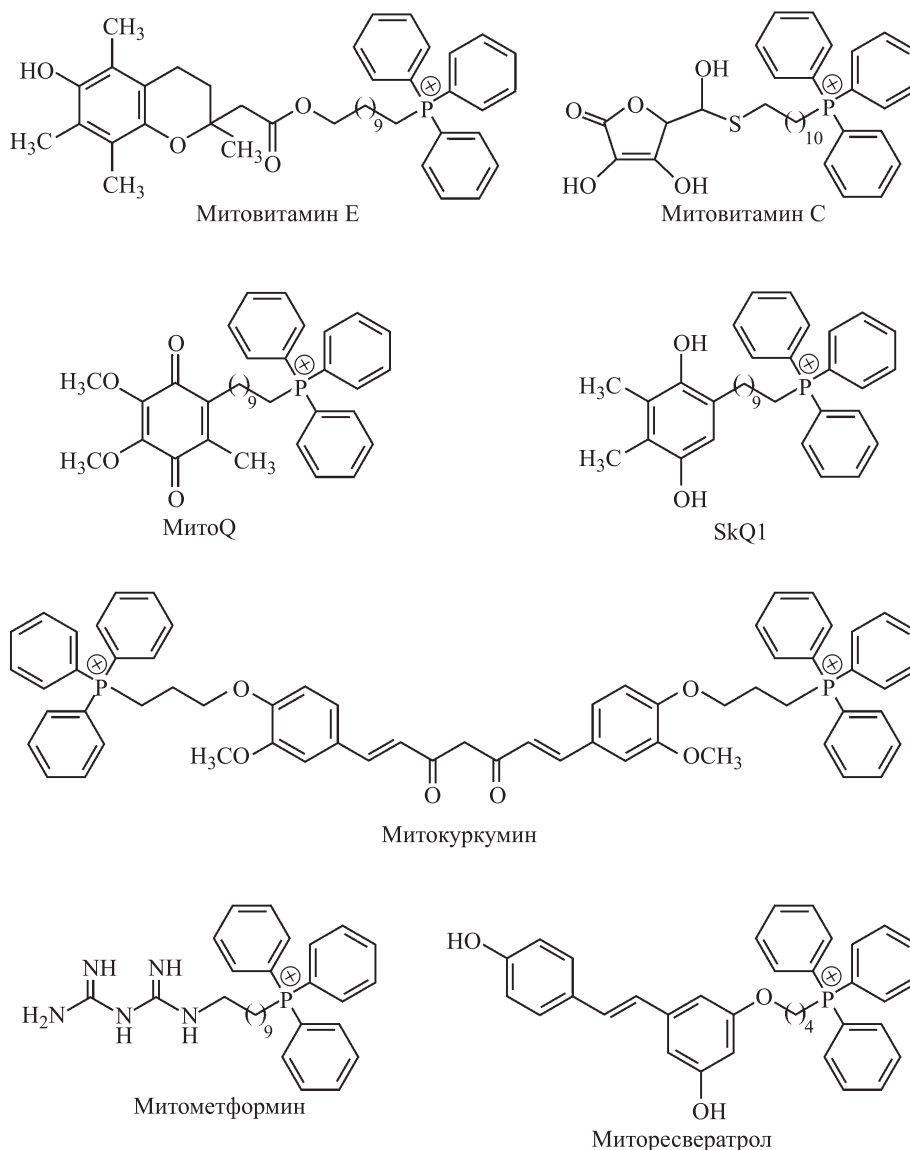
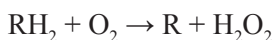


Рис. 2. Митохондриально-адресованные антиоксиданты [2, 24, 49, 51]

Пероксисомы. Наряду с митохондриями в клетках млекопитающих пероксисомы являются основными потребителями O_2 , который используется различными оксидазами (оксидаза L-аминокислот, уратоксидаза, оксидаза D-аминокислот и др.) для отщепления атомов водорода от некоторых органических субстратов (RH_2) с образованием пероксида водорода:



В последующем H_2O_2 служит для окисления фенолов, формальдегида, этанола и других соединений. В гепатоцитах пероксисомы утилизируют 20 % кислорода и продуцируют 35 % внутриклеточной перекиси водорода [32, 89]. Пероксисомы также содержат ксантиноксидоредуктазу и индуцибельную NO-синтазу, являющиеся потенциальными источниками $O_2^{\cdot -}$ и NO^{\cdot} [89]. Помимо

ферментов, генерирующих АКМ, пероксисомы содержат много каталазы и глутатионпероксидазы, поэтому рассматриваются как важный регулятор редокс-баланса в клетках [27, 71, 87]. С возрастом содержание каталазы в пероксисомах снижается, что может быть связано с ингибированием белка PEX5 (peroxin 5), отвечающего за импорт фермента в пероксисомы [27]. Возрастные нарушения функций пероксисом могут являться причиной развития возрастных патологий, в том числе канцерогенеза [27].

В пероксисомах происходит окисление жирных кислот, разрушение токсичных соединений, а также осуществляется синтез холестерина и эфирсодержащих липидов, которые необходимы для роста опухолевых клеток. С пероксисомами связывается опухолевый супрессор TSC (tuberous sclerosis complex), деградация которого может ин-

дуцировать канцерогенез [89]. Пероксины (факторы биогенеза пероксисом) представляют собой белки, необходимые для сборки функциональных пероксисом. Повышенная активность пероксисомальных ферментов обнаружена во многих типах опухолей [29]. На клетках гепатокарциномы человека разных линий показано, что ингибирование PEX2, PEX5, PEX10 и PEX12 малыми интерферирующими РНК останавливает рост клеток [23]. При этом в ряде клеточных культур повышалась продукция АКМ, а в некоторых снижалась, ингибировался mTOR (mammalian target of rapamycin complex) и усиливалась аутофагия. Важным регулятором окислительных процессов в пероксисомах выступает пептидаза LONP2 (lon peptidase 2), которая отвечает за деградацию поврежденных белков [21]. Ингибирование LONP2 подавляло продукцию АКМ и пролиферацию опухолевых клеток [94].

NAD(P)H-оксидазы. Мембранные NAD(P)H-оксидазы (Nox1 – Nox5, DUOX1 и DUOX2) специализированы на продукции АКМ, которые необходимы для защиты от инвазии микроорганизмами и вирусами, а также регуляции многих клеточных функций [22, 77]. При этом Nox1, Nox2, Nox3 и Nox5 синтезируют $O_2^{\bullet-}$, а Nox4 и двойные оксидазы DUOX1, DUOX2 преимущественно продуцируют H_2O_2 [52, 66]. Содержание и механизмы экспрессии разных изоформ NAD(P)H-оксидаз в клетках и тканях существенно различаются (таблица). Вместе с тем повышенная экспрессия Nox1, Nox2, Nox4, Nox5, DUOX1 выявляется при многих формах рака [14, 60]. При этом высокая активность Nox1 и Nox5 ассоциируется с клеточной пролиферацией и ангиогенезом, а Nox2 способствует метастазированию и оказывает иммуносупрессивное действие [14, 66]. Активность Nox4 связывается с пролиферацией и

Таблица

Свойства субъединиц NAD(P)H-оксидаз человека [10, 80]

Каталитическая субъединица	Молекулярная масса, кДа	Длина (число а.к.о.)	Хромосомная локализация	Регуляторные субъединицы	Генерируемая форма АКМ	Локализация в организме
Nox1	64,9	564	Xq22	p22 ^{phox} , Noxo1, Noxa1, Rac1	$O_2^{\bullet-}$	Толстый кишечник, гладкомышечные клетки, эндотелий, плацента, простата, матка, кожа, остеокласты, перициты сетчатки
Nox2	65,3	570	Xp21.1	p22 ^{phox} , p47 ^{phox} , p67 ^{phox} , Rac1, Rac2	$O_2^{\bullet-}$	Фагоциты, В-лимфоциты, кардиомиоциты, гепатоциты, гладкомышечные клетки сосудов, фибробласты, скелетные мышцы, нейроны, легкие, каротидные тельца, почки
Nox3	64,9	568	6q25.1-q26	p22 ^{phox} , p47 ^{phox} , p67 ^{phox} , Noxo1, Noxa1, Rac1	$O_2^{\bullet-}$	Ткани эмбриона, внутреннее ухо, нейроны
Nox4	66,9	578	11q14.2-q21	p22 ^{phox}	$O_2^{\bullet-}/H_2O_2$	Почки, гладкомышечные клетки сосудов, эндотелий, остеокласты, фибробласты, кератиноциты, кардиомиоциты, кости, яичник, поджелудочная железа, глаз, скелетные мышцы, яички, плацента, жировая ткань
Nox5	86,4	765	15q22.31	Регулируется ионами кальция и фосфорилированием	$O_2^{\bullet-}$	Яички, яичник, простата, поджелудочная железа, селезенка, лимфоузлы
DUOX1	177,2	1551	15q15.3	Регулируется ионами кальция и фосфорилированием	H_2O_2	Щитовидная железа, трахея, бронхи, плацента, яички, простата, поджелудочная железа, сердце
DUOX2	175,4	1548	15q15.3	Регулируется ионами кальция и фосфорилированием	H_2O_2	Щитовидная железа, толстый и тонкий кишечник, 12-перстная кишка, трахея, почки, печень, легкие, простата, поджелудочная железа, слюнные железы, яички

ингибированием апоптоза [66]. Продукция АКМ NAD(P)H-оксидазами необходима для формирования инвадоподий [33], а также ангиогенеза [43].

Первой из NAD(P)H-оксидаз был открыт и описан фермент фагоцитов: в 1973 г. группой Бернарда М. Бабиора (Bernard M. Babior) показана связь дыхательного («метаболического», «окислительного») взрыва, наблюдаемого при стимуляции фагоцитов, с продукцией $O_2^{\bullet-}$ мембранно-связанной NADPH-оксидазой [10]. В последующем установлено, что она представляет собой ферментный комплекс, каталитическая субъединица которого получила название Nox2. Генерация $O_2^{\bullet-}$ при активации NADPH-оксидазы фагоцитов играет ключевую роль в реализации их микробицидного, цитотоксического и иммунорегуляторного действия [85]; входящие в ее состав 5 компонентов (gp91^{phox} (Nox2), p22^{phox}, p47^{phox}, p67^{phox} и p40^{phox}) в покоящемся фагоците локализованы в разных внутриклеточных компартментах, а при стимуляции клетки собираются на цитоплазматической мембране в активный комплекс [10]. С генетически обусловленным отсутствием или дисфункцией основных компонентов NADPH-оксидазы связано развитие редкого (1 на 200 000–250 000 новорожденных) наследственного заболевания – хронического гранулематоза; страдающие им люди погибают в возрасте 25–30 лет от инфекционных патологий, крайне редко доживая до 50–60 лет [10].

Последующие исследования позволили выявить ряд других изоформ NAD(P)H-оксидаз, структурно схожих с фагоцитарной, но имеющих принципиальные функциональные отличия – генерируемый ими в сравнительно небольших количествах $O_2^{\bullet-}$ играет скорее регуляторную, сигнальную роль, нежели цитотоксическую [10]. Первым в 1999 г. из клеток карциномы прямой кишки человека и гладкомышечных клеток артерий крысы выделен гомолог субъединицы gp91^{phox}, названный NOH-1 (NADPH oxidase homolog 1). Во избежание путаницы в 2000 г. была принята общая номенклатура, по которой гомологи флавоцитохрома b₅₅₈ стали называть Nox (NADPH oxidase); вышеописанный гомолог обозначен как Nox1, а gp91^{phox} фагоцитирующих клеток – как Nox2. Белок Nox1 человека на 56 % идентичен аналогичной фагоцитарной субъединице, в его состав входят все основные структурные и функциональные домены, характерные для Nox2 (трансмембранные сегменты I–VI, участки связывания NADPH, FAD и двух гемовых структур). Изоформа в большом количестве содержится в эпителиоцитах толстого кишечника человека и в меньшей степени – в матке, простате и гладкомышечных клетках, недавно установлено, что она также экспрессируется эндотелиоцитами некото-

рых сосудов. Предполагается, что Nox1 играет важную роль в антимикробной цитотоксической защите организма и обеспечении врожденного иммунитета: так, показано, что данный гомолог может заменять Nox2 при дефиците последнего, например, в случае хронического гранулематоза, тем самым частично восстанавливая способность клеток организма к генерации супероксид-аниона.

В 2000 г. в ткани почек эмбрионов и клетках линии HepG2 обнаружен Nox3 – белок, идентичный Nox2 (gp91^{phox}) на 58 %; в настоящее время выявляется главным образом в фетальных тканях (почки, печень, легкие, селезенка), а у крыс и мышей – также и во внутреннем ухе взрослых особей [10]. Генетический дефект Nox3 у мышей приводит к развитию так называемого фенотипа «склоненной головы» (het), у этих животных обнаруживаются дефекты морфогенеза отолитов (кристаллов внутреннего уха, принимающих участие в восприятии ощущения силы тяжести) и вестибулярные расстройства, проявляющиеся в нарушении равновесия и восприятия ощущения силы тяжести; было выдвинуто предположение, что содержащая Nox3 NAD(P)H-оксидаза опосредует АКМ-зависимые изменения конформации отоконина-90, участвующего в образовании центров кристаллизации при формировании кристаллов кальцита в ходе развития отокониев.

Гомолог Nox4, идентичный фагоцитарной Nox2 на 39 %, первоначально был описан как оксидаза почек (Renox, renal oxidase), поскольку обнаруживался только в почках (у мышей – в проксимальных канальцах коры, у человека – в дистальной части нефрона); в настоящее время показано, что Nox4 экспрессируется в сердце, поджелудочной железе, плаценте, скелетной мускулатуре, яичниках, яичках, жировой ткани, а также в остеокластах, гладкомышечных клетках, эндотелиоцитах, фибробластах, астроцитах, гемопоэтических стволовых клетках [10]. В отличие от Nox2, Nox4 локализована в основном не на цитоплазматической мембране, а на внутриклеточных – в митохондриях, ядре, цитоскелете, эндоплазматическом ретикулуме. Интересной особенностью Nox4 является то, что она синтезирует преимущественно не $O_2^{\bullet-}$, а H_2O_2 – либо за счет прямой диоксигеназной активности, либо благодаря наличию остатка гистидина в составе E-петли, который может служить в качестве источника протонов или участка связывания ионов металлов, тем самым придавая белку супероксид-дисмутазоподобную активность. Оксидаза Nox4 экспрессируется на действие ростовых факторов (инсулин-подобный ростовой фактор, трансформирующий ростовой фактор бета), поэтому играет важную роль в клеточной пролиферации и

дифференцировке. У нокаутных по Nox4 мышей повышена пролиферация гепатоцитов, при этом быстрее развивались и росли гепатоклеточные карциномы [28].

Nox5 наименее гомологична другим изоформам NADPH-оксидаз, ее идентичность gp91^{phox} фагоцитов составляет 27 %. Помимо консервативных регионов, необходимых для функционирования электрон-транспортной цепи NADPH-оксидазы (участки связывания NADPH, FAD и гемов), в состав Nox5 входит дополнительный N-концевой фрагмент, содержащий четыре так называемых участка типа «EF-рука», благодаря которым фермент способен активироваться ионами кальция и может функционировать достаточно автономно, без участия цитозольных компонентов; так, генерация супероксид-аниона клетками, экспрессирующими Nox5, индуцируется иономицином (ионофором кальция, повышающим концентрацию Ca²⁺ в цитоплазме). мРНК субъединицы Nox5 выявлена в яичках, селезенке и лимфатических узлах [10]. Локализация компонента в сперматоцитах 1-го порядка позволяет предположить его роль как в сперматогенезе (деление клеток, апоптоз, упаковка ДНК), так и в функционировании зрелых сперматозоидов (акросомная реакция, проникновение в яйцеклетку); в селезенке и лимфоузлах Nox5 экспрессируется в зонах, богатых В- и Т-клетками и, очевидно, участвует в активации, пролиферации и дифференцировке лимфоцитов [77]. При этом Nox5 не выявляется ни в макрофагах или дендритных клетках селезенки, ни в лимфоцитах периферической крови. Интересно, что, хотя Nox5 по сравнению с другими гомологами β-субъединицы наиболее эволюционно далека от фагоцитарной изоформы, с функциональной точки зрения первая и последняя довольно схожи.

Двойные оксидазы DUOX1 и DUOX2 были впервые выделены из тироцитов в 1999 г. и охарактеризованы как тироидные оксидазы, участвующие в синтезе тироидных гормонов [77]. Последующие исследования показали, что они широко представлены во многих эпителиальных тканях: легких, плаценте, коже и др. По аминокислотному составу DUOX1 и DUOX2 на 83 % гомологичны друг другу и на 53 и 47 % – субъединице Nox2 фагоцитирующих клеток, обе содержат участки «EF-рука» для связывания ионов Ca²⁺, поэтому активируются в ответ на выход кальция из депо, при этом DUOX1 более индуцибельна [60]. Предполагается, что белки DUOX, содержащиеся в эпителиоцитах слюнных желез и в слизистых оболочках прямой кишки и главных воздухоносных путей, играют важную роль в противомикробной защите хозяина. Так, в перечисленных местах контакта организма с агрессивной внешней средой

данные оксидазы, очевидно, работают в тандеме с лактопероксидазой, служа для нее источниками перекиси водорода.

Высокая экспрессия Nox1 выявлена в клетках рака желудка и толстой кишки, в экспериментах *in vitro* ее специфическое ингибирование существенно снижало пролиферацию клеток различных культур злокачественных новообразований данной локализации [95]. Вместе с тем в других исследованиях ингибирование Nox1 не влияло на рост клеток эпителиальной колоректальной аденокарциномы человека Caco-2 [84]. Продукция АКМ Nox2 способствует пролиферации, метастазированию и иммуносупрессии, в частности, посредством ингибирования активности NK-клеток [66]. Механизмы регуляции Nox3 в опухолевых клетках остаются малоизученными. Гиперэкспрессия Nox4 в нормальных эпителиальных клетках молочной железы способствует их старению, устойчивости к апоптозу и опухолевой трансформации, а в уже трансформированных клетках молочной железы ускоряет перерождение, что позволило авторам назвать Nox4 онкопротеином [41]. На культурах опухолевых клеток ингибирование Nox2, Nox3, Nox4 и Nox5 дифенилениодидом или малыми интерферирующими РНК уменьшало продукцию АКМ и усиливало апоптоз [57, 67], аналогичный результат по Nox4 получен на 7 клеточных линиях мезотелиомы [83]. Nox5 остается мало исследованной; показано, что ее экспрессия значительно снижена в клетках аденокарциномы яичников человека, устойчивых к действию цисплатина [6]. Содержание DUOX1 снижено в большинстве эпителиоидных опухолей, в то время как экспрессия DUOX2 преимущественно не изменена по сравнению с нормальными тканями [60]. Исследования на разных линиях клеток опухолей легких показали, что ингибирование DUOX1 повышает миграцию и формирование колоний, в то время как гиперэкспрессия тормозит эти процессы [59]. Сегодня предлагаются новые специфические ингибиторы для разных изоформ NAD(P)H-оксидаз, которые позволят более точно исследовать роль данных ферментов в процессах канцерогенеза [84, 95].

Механизмы антиоксидантной защиты. Повышенный уровень продукции АКМ активирует эндогенные механизмы антиоксидантной защиты, такие как редокс-зависимая система антиоксидант-респонсивного элемента Keap1/Nrf2/ARE [49, 91] и аутофагия [36, 78]. Система Keap1/Nrf2/ARE контролирует экспрессию более 500 генов, среди которых можно выделить две большие группы: кодирующие антиоксидантные ферменты (гемоксигеназа-1, глутатионпероксидаза-2, глутаматцистеинлигаза, глутатионредуктаза, тиоредоксинредуктаза и др.) и ферменты

II фазы детоксикации ксенобиотиков (глутатион-S-трансферазы А, М, Р, NAD(P)H:хиноноксидоредуктаза-1, NRH:хиноноксидоредуктаза-2, УДФ-глюкуронозилтрансферазы А и В и др.) [4]. Аутофагия (от др.-греч. «αὐτός» – сам и «φαγεῖν» – «есть») является основным катаболическим процессом удаления из клеток агрегированных белков, поврежденных органелл и внутриклеточных патогенов [13, 69]. Защитная функция аутофагии при окислительном стрессе не ограничивается только ролью «чистильщика», удаляющего из клеток потенциально опасные источники АКМ (митофагия, пексофагия), а также токсических продуктов окислительного стресса (агрефагия, липофагия) [13], посредством аутофагии может активироваться система Keap1/Nrf2/ARE [4, 15]. Это позволяет рассматривать аутофагию как важный элемент антиоксидантной защиты [31, 36].

Редокс-чувствительная сигнальная система Nrf2/Keap1/ARE. Сегодня известно более 20 редокс-чувствительных факторов транскрипции, среди которых особое место занимает Nrf2 (nuclear E2-related factor 2), регулирующий экспрессию генов, содержащих в своих промоторах антиоксидант-респонсивный элемент ARE (antioxidant responsive element). В клетках Nrf2 находится под постоянным контролем репрессорного белка Keap1 (Kelch-like ECH associating protein 1), являющегося своеобразным молекулярным «сенсором» изменения внутриклеточного редокс-баланса. Неразрывная связь этих молекулярных структур позволяет объединить их в единую редокс-чувствительную сигнальную систему Keap1/Nrf2/ARE, главным назначением которой является поддержание внутреннего гомеостаза при апоптоз-индуцирующих, канцерогенных и стрессовых воздействиях. Биологическая важность системы Keap1/Nrf2/ARE, регулирующей внутриклеточный редокс-баланс, определяется тем, что она контролирует активность целого ряда редокс-чувствительных факторов транскрипции, а также метаболических процессов с участием фосфатаз и киназ [15]. Поэтому в последние годы идет активный поиск и исследование новых как активаторов, так и ингибиторов транскрипционной активности Nrf2 в целях профилактики и терапии широкого спектра заболеваний [5].

Фактор транскрипции Nrf2 относится к факторам с лейциновой молнией семейства CNC, которые для связывания с ДНК формируют гомо- или гетеродимеры. Семейство CNC млекопитающих включает в себя шесть членов: четыре фактора NFE – p45 NF-E2, Nrf1, Nrf2 и Nrf3, а также два фактора BTB – Bach1 и Bach2. Участком для связывания Nrf2 в составе ДНК служит антиоксидант-респонсивный элемент ARE, со-

державший последовательность нуклеотидов 5'-A^GTGAC^TnnnGCA^G-3'. Все факторы семейства CNC могут образовывать регуляторно-активные димеры, однако в зависимости от способности связывать кофакторы транскрипции они усиливают или ингибируют экспрессию ARE-зависимых генов, поэтому выключение или гиперпродукция каждого из них приводят к различным эффектам на уровне клетки и целого организма. В большинстве случаев факторы транскрипции Bach1 и Bach2 выступают антагонистами в отношении Nrf2, конкурируя с ним за связывание с ARE [97]. В нормальных условиях Bach1 преимущественно локализован в ядре, что позволяет поддерживать некоторые гены в репрессированном состоянии. В физиологических условиях транскрипционная активность Nrf2 находится на низком уровне вследствие его быстрого убиквитинирования и деградации в 26S-протеасомах, а также благодаря различным модификациям аминокислотных остатков транскрипционного фактора, регулирующих его транспорт в ядро и связывание с ДНК. Посредством аутофагии и эпигенетической регуляции достигается длительная активация Nrf2, что может лежать в основе повышенной устойчивости опухолевых клеток к радио- и химиотерапии.

В канцерогенезе система Keap1/Nrf2/ARE играет двойственную роль [51, 55, 65, 74]. На начальном этапе высокая активность Nrf2 защищает клетки от действия токсинов и канцерогенов, чем предотвращает опухолевую трансформацию [15], нокаутные по Nrf2 мыши более чувствительны к действию канцерогенов [51, 65, 74]. В то же время существует точка зрения, что воздействие канцерогенов служит своего рода давлением отбора, приводящим к селекции клеток с фенотипом устойчивой активации Nrf2 [54]; повышенная экспрессия Nrf2 выявляется во многих опухолевых клетках [15, 70]. При этом Nrf2 рассматривается как ключевой элемент химиорезистентности, так как контролирует экспрессию АТФ-связывающих кассетных транспортеров, последовательности ARE выявлены в промоторах многих генов, синтезирующих белки, ассоциированные с множественной лекарственной устойчивостью [15]. Кроме того, Nrf2 активирует синтез антиапоптотических белков семейства Bcl2, тем самым ингибируя апоптоз [55]. Исследования на клеточных культурах свидетельствуют о том, что активация Nrf2 делает опухолевые клетки более резистентными к действию цитостатиков (доксорубицина, карбоплатина, цисплатина и др.) и радиотерапии [6, 15, 65]. У людей с плоскоклеточным ороговевающим раком ротовой полости высокий уровень экспрессии Nrf2 в клетках опухоли ассоциировался

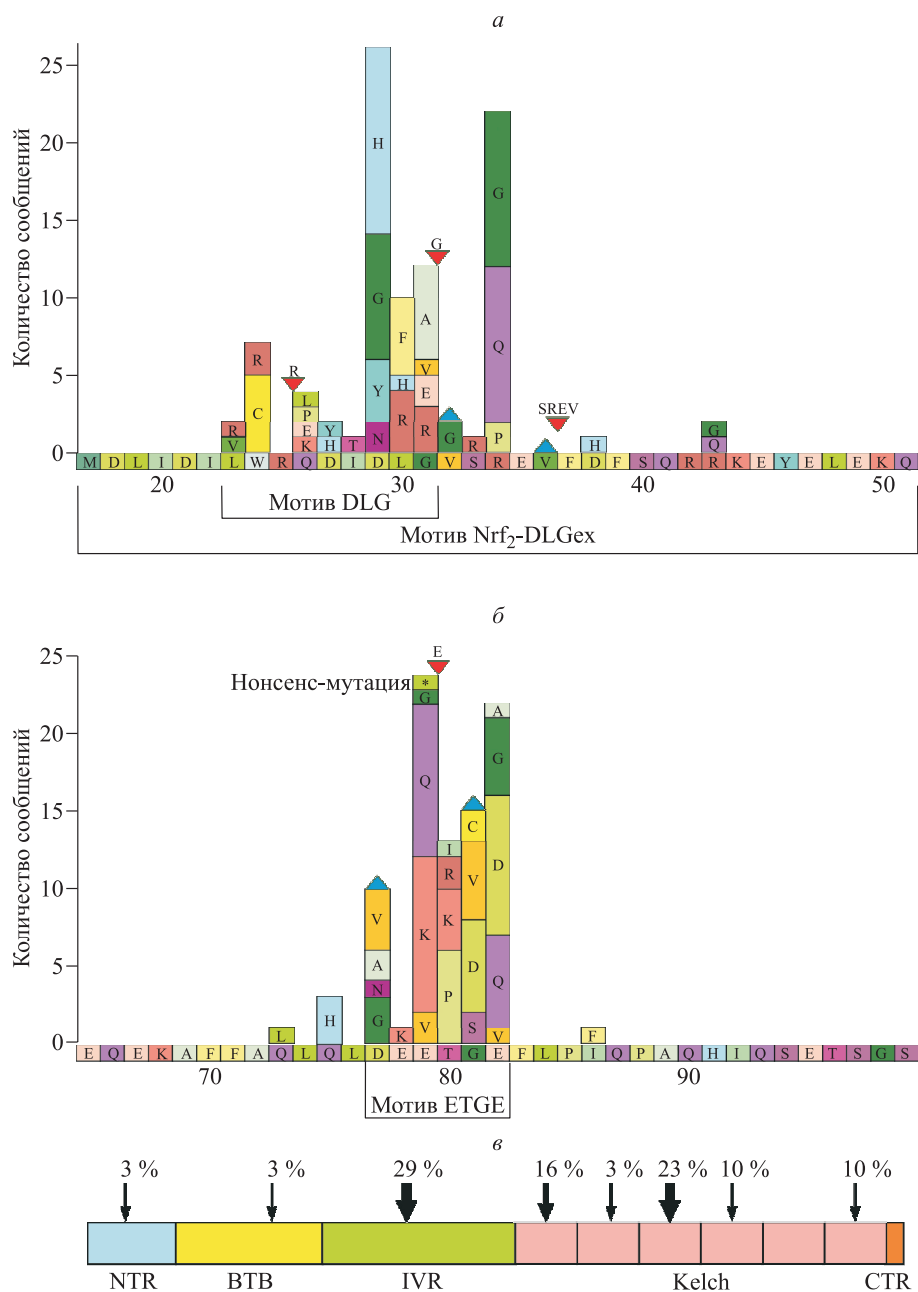


Рис. 3. Расположение и процентное соотношение мутаций генов *Nrf2* (а – мотив DLGex, б – мотив ETGE) [36] и *Keap1* (в) у пациентов с различными злокачественными новообразованиями [77]. На фрагментах а и б прямоугольниками обозначены мутации замены оснований, синими треугольниками – делеции, красными треугольниками – инсерции

со скоростью ее роста и метастазированием в лимфатические узлы, в разных культурах клеток новообразования данного типа ингибирование *Nrf2* снижало пролиферацию и индуцировало апоптоз, а при моделировании у мышей *in vivo* подавляло рост опухоли [62].

Более 20 % случаев рака легкого сопряжены с конститутивной активацией *Nrf2*, причиной которой являются мутации генов *Keap1* и *Nrf2* [18, 48,

80], причем прогноз у таких пациентов хуже, чем у больных с нормальным генотипом; миссенс-мутации *Keap1* обнаруживаются также при раке груди, головы и шеи, печени, желчного пузыря, мутации *Nrf2*, в результате которых фактор остается транскрипционно активным, но нарушается его способность связываться с ингибитором *Keap1*, – при злокачественных новообразованиях головы и шеи, пищевода, кожи (рис. 3) [55, 74, 80]. *Keap1*

может связывать и убиквитинировать белки Bcl2, поэтому в некоторых случаях его активация повышала апоптоз опухолевых клеток [74].

Анализ базы данных Атласа генома рака (The Cancer Genome Atlas, TCGA), представляющего собой комплексные многомерные карты геномных изменений при 33 типах злокачественных новообразований, показал, что из 10364 случаев соматические мутации генов *Nrf2* и *Keap1* встречались соответственно в 226 и 222 случаях, в том числе обоих генов – у 12 человек; при 13 типах рака количество мутаций гена *Nrf2*, сопровождающихся увеличением активности белка Nrf2, было существенно больше, чем приводящих к его снижению (при аденокарциноме простаты, прямой кишки, низкоккачественных глиомах – на 2–3 порядка) [54]. В опухолях с мутациями *Nrf2* и *Keap1* существенно чаще встречались трансверсии (замена пуринового основания на пиримидиновое или наоборот), нежели транзиции (замена одного пурина на другой пурин или замена одного пиримидина на другой пиримидин), что также характерно и для мутагенного действия экзогенных канцерогенов. Выше уже приведена гипотеза о давлении отбора, в результате которого индуцибельная защита клеток от внешних поллютантов, помогающая им в том числе бороться с канцерогенезом, при наличии конститутивной активации системы Keap1/Nrf2/ARE, обусловленной мутационными изменениями, дает клеткам селективные преимущества и может приводить к опухолевой трансформации. Одним из подтверждений этой гипотезы служит следующее: мутация R34 в белке Nrf2 (мотив DLGex) – наиболее часто встречающаяся в проанализированной когорте из 10364 случаев рака [54] (что подтверждается данными других авторов [37]), при этом R34L, один из четырех возможных вариантов замены аргинина, не обнаружен ни в одном случае, и в экспериментах *in vitro* он был наименее стабилен ($t_{1/2}$ белка дикого типа – 15 мин, $t_{1/2}$ R34L – 22 мин, $t_{1/2}$ трех остальных мутантов – от 31 до 49 мин). Вероятно, существует некоторый проканцерогенный порог активации системы Keap1/Nrf2/ARE, переходя через который клетки получают возможность позитивного отбора при промоции и прогрессии опухоли.

Необходимо также отметить, что большое количество случаев рака связано с активацией Nrf2, обусловленной не соматическими мутациями в самих генах *Nrf2* или *Keap1*, а мутациями в генах вспомогательных компонентов системы Keap1/Nrf2/ARE (например, CUL3 [72]), генах белков, содержащих DLG/ETGE-подобные мотивы (например, дипептидилпептидазы 3 [63]), или приводящих к накоплению онкометаболитов (на-

пример, активатора Nrf2 фумарата при дефиците фумаратгидратазы [12]).

Аутофагия. Процессы аутофагии разделяют на макроаутофагию (формирование фагофора с двойной изолирующей мембраной, захватывающего внутриклеточные структуры для слияния с лизосомами), микроаутофагию (захват содержимого цитоплазмы путем инвагинации мембраны лизосом) и шаперон-опосредованную аутофагию (поврежденные молекулы доставляются белками-шаперонами посредством лизосомального рецептора LAMP2A (lysosomal-associated membrane protein 2A)) (рис. 4). Макроаутофагия может быть неселективной, когда определенная область цитоплазмы окружается мембраной, или селективной, направленной на удаление белковых агрегатов (агрефагия), поврежденных митохондрий (митофагия), пероксисом (пексофагия), эндоплазматического ретикула (ретикулофагия), секреторных гранул (кринофагия), липидных вакуолей (липофагия), а также различных внутриклеточных патогенов, бактерий и вирусов (ксенофагия) [13, 69]. Главным механизмом поддержания клеточного гомеостаза является макроаутофагия, которую в последующем мы будем называть просто аутофагией.

Аутофагия играет двойственную роль в канцерогенезе [20]. Ее угнетение на начальной стадии канцерогенеза значительно повышает опухолевую трансформацию: дефекты в генах различных компонентов аутофагии выявляются в 50 % опухолей человека [64]; снижение содержания рецепторов аутофагии, таких как Beclin 1 (аналог Atg6 дрожжей) или Atg6, стимулирует спонтанное образование опухолей в разных органах [49, 82]. Однако в последующем аутофагия помогает опухолевым клеткам выживать в условиях гипоксии, метаболических и терапевтических стрессовых воздействий, при этом ингибирование аутофагии усиливает апоптоз [31]. Взаимосвязь аутофагии с системой Keap1/Nrf2/ARE также важна для антиоксидантной защиты опухолевых клеток. Специфическое ингибирование связывания p62 (рецептор аутофагии) с Keap1 в клетках гепатоклеточной карциномы снижало пролиферацию и устойчивость клеток к цисплатину [49]. В настоящее время проходят масштабные исследования противоопухолевого действия ингибиторов аутофагии, таких как хлорохин и гидроксихлорохин [64, 69].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сегодня ведутся активные исследования возможности регуляции редокс-баланса опухолевых клеток: синтезируются антиоксиданты с направ-

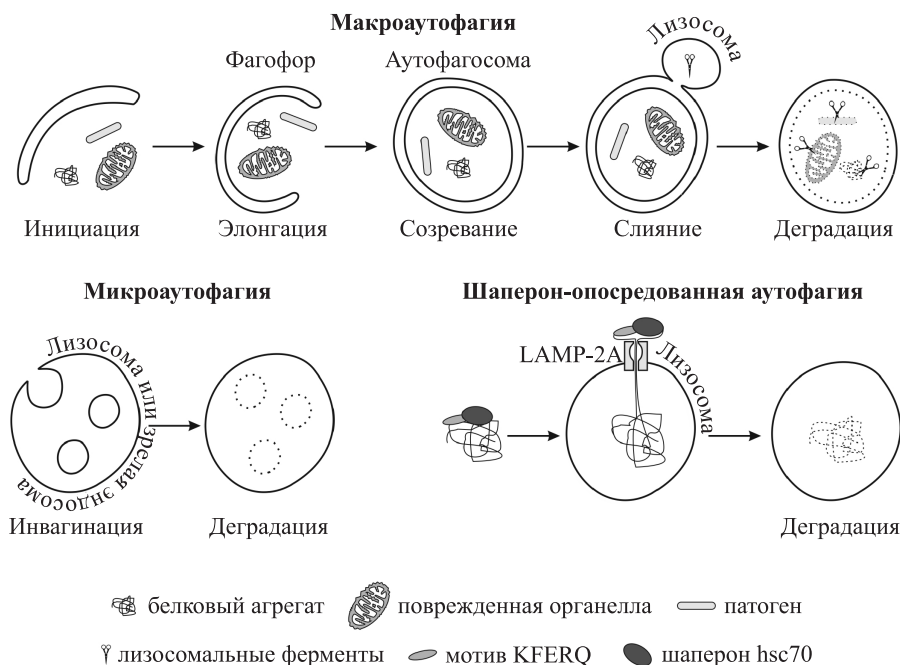


Рис. 4. Основные типы аутофагии

ленным действием [40, 52]; разрабатываются специфические ингибиторы ферментативных механизмов продукции АКМ и антиоксидантной защиты [56, 57]; применяются комбинации разных антиоксидантов [68]. Интересным направлением является создание гибридных антиоксидантов, действующих на разные формы АКМ. В частности, нами синтезирован ряд водорастворимых фенолов с разной степенью экранирования ОН-группы и содержащих в своей структуре тиосульфатные группы ($-S-SO_3^-$). На культурах клеток карциномы гортани человека линии НЕР-2 и клетках аденокарциномы молочной железы линии МСF-7 одно из этих соединений, 3-(3'-трет-бутил-4'-гидроксифенил)-пропилтиосульфат натрия (ТС-13), индуцировало апоптоз [8], при этом снижалась резистентность опухолевых клеток к доксорубину [7]. В экспериментальной модели мышей с лимфолейкозом (Р-388) ТС-13 усиливал химиотерапевтическую активность цитостатика циклофосфана, взятого в субтерапевтической дозе, увеличивая индекс средней продолжительности жизни мышей с лейкемией со 196 до 283 % по отношению к контролю. При моделировании роста перевиваемой карциномы легких Льюис у мышей, получавших ТС-13 с питьевой водой, наблюдалось торможение роста опухоли, сравнимое с эффектом доксорубина (соответственно на 32,3 и 49,5 %), при этом совместное назначение ТС-13 и цитостатика подавляло рост опухоли на 55,4 % [9]. Очевидно, что исследование гибридных антиоксидантов позволят открыть

новое направление терапии онкологических патологий с позиций коррекции редокс-баланса опухолевых клеток.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аникин И.В., Попович И.Г., Тындык М.Л., Забежский М.А., Юрова М.Н., Скулачев В.П., Анисимов В.Н. Действие производного пластохинона SkQ1 на канцерогенез в мягких тканях, индуцированный бенз(а)пиреном // *Вопр. онкологии*. 2013. 59. (1). 89–93.
2. Антоненко Ю.Н., Аветисян А.В., Бакеева Л.Е., Черняк Б.В., Чертков В.А., Домнина Л.В., Иванова О.Ю., Изюмов Д.С., Хайлова Л.С., Клишин С.С., Коришнова Г.А., Лямзаев К.Г., Мунтян М.С., Непряхина О.К., Пашиковская А.А., Плетюшкина О.Ю., Пустовидко А.В., Рогинский В.А., Рокицкая Т.И., Рууге Э.К., Сапрунова В.Б., Северина И.И., Симонян Р.А., Скулачев И.В., Скулачев М.В., Сумбатян Н.В., Свириева И.В., Ташицкий В.Н., Васильев Ю.М., Высоких М.Ю., Ягузинский Л.С., Замятнин А.А., Скулачев В.П. Производное пластохинона, адресованное в митохондрии, как средство, прерывающее программу старения. 1. Катионные производные пластохинона: синтез и исследование *in vitro* // *Биохимия*. 2008. 73. (12). 1589–1606.
3. Гривенникова В.Г., Виноградов А.Д. Генерация АФК митохондриями // *Успехи биол. химии*. 2013. 53. 245–296.
4. Зенков Н.К., Кожин П.М., Чечушков А.В., Мартинович Г.Г., Кандалицева Н.В., Меньщикова Е.Б. Лабиринты регуляции Nrf2 // *Биохимия*. 2017. 82. (5). 757–767.

5. Зенков Н.К., Меньщикова Е.Б., Ткачев В.О. Редокс-чувствительная сигнальная система Keap1/Nrf2/ARE как фармакологическая мишень // Биохимия. 2013. 78. (1). 27–47.
6. Калинина Е.В., Андреев Я.А., Петрова А.С., Лубова К.И., Штиль А.А., Чернов Н.Н., Новичкова М.Д., Нурмурадов Н.К. Редокс-зависимая экспрессия генов NADPH-оксидазы 5 и ключевых антиоксидантных ферментов при формировании лекарственной устойчивости опухолевых клеток к цисплатину // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2018. 165. (5). 624–627.
7. Мартинович Г.Г., Мартинович И.В., Вчерашняя А.В., Зенков Н.К., Меньщикова Е.Б., Кандалинцева Н.В., Черенкевич С.Н. Механизмы редокс-регуляции химиорезистентности опухолевых клеток фенольными антиоксидантами // Биофизика. 2017. 62. (6). 1142–1152.
8. Мартинович Г.Г., Мартинович И.В., Зенков Н.К., Меньщикова Е.Б., Кандалинцева Н.В., Черенкевич С.Н. Индуктор экспрессии ARE-регулируемых генов фенольный антиоксидант ТС-13 вызывает гибель опухолевых клеток через митохондриально-опосредованный путь // Биофизика. 2015. 60. (1). 120–128.
9. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Кожин П.М., Чечушков А.В., Ковнер А.В., Храпова М.В., Кандалинцева Н.В., Мартинович Г.Г. Синтетический фенольный антиоксидант ТС-13 подавляет рост перевиваемой карциномы легких Льюис и потенцирует онколитический эффект доксорубина // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2018. 116. (11). 592–597.
10. Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К., Бондарь И.А., Круговых Н.Ф., Труфакин В.А. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты. М.: Слово, 2006. 556 с.
11. Павлов В.Н. Свободнорадикальное окисление и канцерогенез: дискуссионные вопросы // Креатив. хирургия и онкология. 2017. 7. (2). 54–61.
12. Adam J., Hatipoglu E., O'Flaherty L., Ternette N., Sahgal N., Lockstone H., Baban D., Nye E., Stamp G.W., Wolhuter K., Stevens M., Fischer R., Carmeliet P., Maxwell P.H., Pugh C.W., Frizzell N., Soga T., Kessler B.M., El-Bahrawy M., Ratcliffe P.J., Pollard P.J. Renal cyst formation in Fh1-deficient mice is independent of the Hif/Phd pathway: roles for fumarate in KEAP1 succination and Nrf2 signaling // Cancer. Cell. 2011. 20. (4). 524–537.
13. Anding A.L., Baehrecke E.H. Cleaning house: Selective autophagy of organelles // Dev. Cell. 2017. 41. (1). 10–22.
14. Antony S., Wu Y., Hewitt S.M., Anver M.R., Butcher D., Jiang G., Meitzler J.L., Liu H., Juhasz A., Lu J., Roy K.K., Doroshow J.H. Characterization of NADPH oxidase 5 expression in human tumors and tumor cell lines with a novel mouse monoclonal antibody // Free Radic. Biol. Med. 2013. 65. 497–508.
15. Basak P., Sadhukhan P., Sarkar P., Sil P.C. Perspectives of the Nrf-2 signaling pathway in cancer progression and therapy // Toxicol. Rep. 2017. 4. 306–318.
16. Battogtokh G., Cho Y.-Y., Lee J.Y., Lee H.S., Kang H.C. Mitochondrial-targeting anticancer agent conjugates and nanocarrier systems for cancer treatment // Front. Pharmacol. 2018. 9. ID 922.
17. Bazhin A.V., Yang Y., D'Haese J.G., Werner J., Philippov P.P., Karakhanova S. The novel mitochondria-targeted antioxidant SkQ1 modulates angiogenesis and inflammatory microenvironment in a murine orthotopic model of pancreatic cancer // Int. J. Cancer. 2016. 139. (1). 130–139.
18. Best S.A., Sutherland K.D. «Keaping» a lid on lung cancer: the Keap1-Nrf2 pathway // Cell Cycle. 2018. 17. (14). 1696–1707.
19. Biasutto L., Mattarei A., Azzolini M., La Spina M., Sassi N., Romio M., Paradisi C., Zoratti M. Resveratrol derivatives as a pharmacological tool // Ann. N. Y. Acad. Sci. 2017. 1403. (1). 27–37.
20. Bishop E., Bradshaw T.D. Autophagy modulation: a prudent approach in cancer treatment? // Cancer Chemother. Pharmacol. 2018. 82. (6). 913–922.
21. Bonekamp N.A., Völkl A., Fahimi H.D., Schrader M. Reactive oxygen species and peroxisomes: Struggling for balance // Biofactors. 2009. 35. (4). 346–355.
22. Breitenbach M., Rinnerthaler M., Weber M., Breitenbach-Koller H., Karl T., Cullen P., Basu S., Haskova D., Hasek J. The defense and signaling role of NADPH oxidases in eukaryotic cells : Review // Wien. Klin. Wochenschr. 2018. 168. (11-12). 286–299.
23. Cai M., Sun X., Wang W., Lian Z., Wu P., Han S., Chen H., Zhang P. Disruption of peroxisome function leads to metabolic stress, mTOR inhibition, and lethality in liver cancer cells // Cancer Lett. 2018. 421. 82–93.
24. Cheng G., Zielonka J., McAllister D.M., Mackinnon A.C., Joseph J., Dwinell M.B., Kalyanaraman B. Mitochondria-targeted vitamin E analogs inhibit breast cancer cell energy metabolism and promote cell death // BMC Cancer. 2013. 13. (1).
25. Cheng G., Zielonka J., Ouari O., Lopez M., McAllister D., Boyle K., Barrios C.S., Weber J.J., Johnson B.D., Hardy M., Dwinell M.B., Kalyanaraman B. Mitochondria-targeted analogues of metformin exhibit enhanced antiproliferative and radiosensitizing effects in pancreatic cancer cells // Cancer Res. 2016. 76. (13). 3904–3915.
26. Chikara S., Nagaprashantha L.D., Singhal J., Horne D., Awasthi S., Singhal S.S. Oxidative stress and dietary phytochemicals: Role in cancer chemoprevention and treatment // Cancer Lett. 2018. 413. 122–134.
27. Cipolla C.M., Lodhi I.J. Peroxisomal dysfunction in age-related diseases // Trends Endocrinol. Metab. 2017. 28. (4). 297–308.

28. Crosas-Molist E., Bertran E., Sancho P., López-Luque J., Fernando J., Sánchez A., Fernández M., Navarro E., Fabregat I. The NADPH oxidase NOX4 inhibits hepatocyte proliferation and liver cancer progression // *Free Radic. Biol. Med.* 2014. 69. 338–347.
29. Dahabieh M.S., di Pietro E., Jangal M., Goncalves C., Witcher M., Braverman N.E., del Rincón S.V. Peroxisomes and cancer: The role of a metabolic specialist in a disease of aberrant metabolism // *Biochim. Biophys. Acta. Rev. Cancer.* 2018. 1870. (1). 103–121.
30. De Groot P.M., Wu C.C., Carter B.W., Munden R.F. The epidemiology of lung cancer // *Transl. Lung Cancer Res.* 2018. 7. (3). 220–233.
31. Desantis V., Saltarella I., Lamanuzzi A., Mariggio M.A., Racanelli V., Vacca A., Frassanito M.A. Autophagy: A new mechanism of prosurvival and drug resistance in multiple myeloma // *Transl. Oncol.* 2018. 11. (6). 1350–1357.
32. Di Meo S., Reed T.T., Venditti P., Victor V.M. Role of ROS and RNS sources in physiological and pathological conditions // *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2016. 2016. 1245049.
33. Diaz B., Shani G., Pass I., Anderson D., Quintavalle M., Courtneidge S.A. Tks5-dependent, Nox-mediated generation of reactive oxygen species is necessary for invadopodia formation // *Sci. Signal.* 2009. 2. (88). ra53–ra53.
34. Dickerson T., Jauregui C.E., Teng Y. Friend or foe? Mitochondria as a pharmacological target in cancer treatment // *Future Med. Chem.* 2017. 9. (18). 2197–2210.
35. Diebold L., Chandel N.S. Mitochondrial ROS regulation of proliferating cells // *Free Radic. Biol. Med.* 2016. 100. 86–93.
36. Filomeni G., de Zio D., Cecconi F. Oxidative stress and autophagy: the clash between damage and metabolic needs // *Cell Death Differ.* 2015. 22. (3). 377–388.
37. Fukutomi T., Takagi K., Mizushima T., Ohuchi N., Yamamoto M. Kinetic, thermodynamic, and structural characterizations of the association between Nrf2-DLGex degron and Keap1 // *Mol. Cell. Biochem.* 2014. 34. (5). 832–846.
38. Galadari S., Rahman A., Pallichankandy S., Thayyullathil F. Reactive oxygen species and cancer paradox: To promote or to suppress? // *Free Radic. Biol. Med.* 2017. 104. 144–164.
39. Gao X., Schotker B. Reduction-oxidation pathways involved in cancer development: a systematic review of literature reviews // *Oncotarget.* 2017. 8. (31). 51888–51906.
40. Gazzano E., Lazzarato L., Rolando B., Kopeccka J., Guglielmo S., Costamagna C., Chegaev K., Riganti C. Mitochondrial delivery of phenol substructure triggers mitochondrial depolarization and apoptosis of cancer cells // *Front. Pharmacol.* 2018. 9. 580.
41. Graham K.A., Kulawiec M., Owens K.M., Li X., Desouki M.M., Chandra D., Singh K.K. NADPH oxidase 4 is an oncoprotein localized to mitochondria // *Cancer Biol. Ther.* 2010. 10. (3). 223–231.
42. Gwangwa M.V., Joubert A.M., Visagie M.H. Crosstalk between the Warburg effect, redox regulation and autophagy induction in tumorigenesis // *Cell. Mol. Biol. Lett.* 2018. 23. (1).
43. Harrison I.P., Selemidis S. Understanding the biology of reactive oxygen species and their link to cancer: NADPH oxidases as novel pharmacological targets // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2014. 41. (8). 533–542.
44. He L., He T., Farrar S., Ji L., Liu T., Ma X. Antioxidants maintain cellular redox homeostasis by elimination of reactive oxygen species // *Cell. Physiol. Biochem.* 2017. 44. (2). 532–553.
45. Helfinger V., Schröder K. Redox control in cancer development and progression // *Mol. Aspects Med.* 2018. 63. 88–98.
46. Hempel N., Trebak M. Crosstalk between calcium and reactive oxygen species signaling in cancer // *Cell Calcium.* 2017. 63. 70–96.
47. Hong S.-K., Starenki D., Wu P.-K., Park J.-I. Suppression of B-RafV600E melanoma cell survival by targeting mitochondria using triphenyl-phosphonium-conjugated nitroxide or ubiquinone // *Cancer Biol. Ther.* 2016. 18. (2). 106–114.
48. Hu Y., Ju Y., Lin D., Wang Z., Huang Y., Zhang S., Wu C., Jiao S. Mutation of the Nrf2 gene in non-small cell lung cancer // *Mol. Biol. Rep.* 2012. 39. (4). 4743–4747.
49. Ichimura Y., Komatsu M. Activation of p62/SQSTM1–Keap1–Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor 2 Pathway in Cancer // *Front. Oncol.* 2018. 8. ID 210.
50. Jayakumar S., Patwardhan R.S., Pal D., Singh B., Sharma D., Kutala V.K., Sandur S.K. Mitochondrial targeted curcumin exhibits anticancer effects through disruption of mitochondrial redox and modulation of TrxR2 activity // *Free Radic. Biol. Med.* 2017. 113. 530–538.
51. Jeddi F., Soozangar N., Sadeghi M.R., Somali M.H., Samadi N. Contradictory roles of Nrf2/Keap1 signaling pathway in cancer prevention/promotion and chemoresistance // *DNA Repair.* 2017. 54. 13–21.
52. Kalyanaraman B., Cheng G., Hardy M., Ouari O., Bennett B., Zielonka J. Teaching the basics of reactive oxygen species and their relevance to cancer biology: Mitochondrial reactive oxygen species detection, redox signaling, and targeted therapies // *Redox Biol.* 2018. 15. 347–362.
53. Kaur R., Kaur J., Mahajan J., Kumar R., Arora S. Oxidative stress—implications, source and its prevention // *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2013. 21. (3). 1599–1613.
54. Kerins M.J., Ooi A. A catalogue of somatic NRF2 gain-of-function mutations in cancer // *Sci. Rep.* 2018. 8. (1). 12846.

55. Kim J., Keum Y.S. NRF2, a key regulator of antioxidants with two faces towards cancer // *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2016. 2016. 2746457.
56. Kirkpatrick D.L., Powis G. Clinically evaluated cancer drugs inhibiting redox signaling // *Antioxid. Redox Signal.* 2017. 26. (6). 262–273.
57. Kitamoto K., Miura Y., Karnan S., Ota A., Konishi H., Hosokawa Y., Sato K. Inhibition of NADPH oxidase 2 induces apoptosis in osteosarcoma: The role of reactive oxygen species in cell proliferation // *Oncol. Lett.* 2018. 15. (5). 7955–7962.
58. Li L., Chen Y., Gibson S.B. Starvation-induced autophagy is regulated by mitochondrial reactive oxygen species leading to AMPK activation // *Cell. Signal.* 2013. 25. (1). 50–65.
59. Little A.C., Sham D., Hristova M., Danyal K., Heppner D.E., Bauer R.A., Sipsey L.M., Habibovic A., van der Vliet A. DUOX1 silencing in lung cancer promotes EMT, cancer stem cell characteristics and invasive properties // *Oncogenesis.* 2016. 5. (10). e261–e261.
60. Little A.C., Sulovari A., Danyal K., Heppner D.E., Seward D.J., van der Vliet A. Paradoxical roles of dual oxidases in cancer biology // *Free Radic. Biol. Med.* 2017. 110. 117–132.
61. Liu-Smith F., Jia J., Zheng Y. UV-induced molecular signaling differences in melanoma and non-melanoma skin cancer // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2017. 996. 27–40.
62. Liu R., Peng J., Wang H., Li L., Wen X., Tan Y., Zhang L., Wan H., Chen F., Nie X. Oxysophocarpine retards the growth and metastasis of oral squamous cell carcinoma by targeting the Nrf2/HO-1 axis // *Cell. Physiol. Biochem.* 2018 1717–1733.
63. Lu K., Alcivar A.L., Ma J., Foo T.K., Zywea S., Mahdi A., Huo Y., Kensler T.W., Gatz M.L., Xia B. NRF2 induction supporting breast cancer cell survival is enabled by oxidative stress-induced DPP3-KEAP1 interaction // *Cancer Res.* 2017. 77. (11). 2881–2892.
64. Marinković M., Šprung M., Buljubašić M., Novak I. Autophagy modulation in cancer: Current knowledge on action and therapy // *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2018. 2018. 1–18.
65. Menegon S., Columbano A., Giordano S. The dual roles of NRF2 in cancer // *Trends Mol. Med.* 2016. 22. (7). 578–593.
66. Miyata Y., Matsuo T., Sagara Y., Ohba K., Ohyama K., Sakai H. A mini-review of reactive oxygen species in urological cancer: Correlation with NADPH oxidases, angiogenesis, and apoptosis // *Int. J. Mol. Sci.* 2017. 18. (10). 2214.
67. Mochizuki T., Furuta S., Mitsushita J., Shang W.H., Ito M., Yokoo Y., Yamaura M., Ishizone S., Nakayama J., Konagai A., Hirose K., Kiyosawa K., Kamata T. Inhibition of NADPH oxidase 4 activates apoptosis via the AKT/apoptosis signal-regulating kinase 1 pathway in pancreatic cancer PANC-1 cells // *Oncogene.* 2006. 25. (26). 3699–3707.
68. Moghtaderi H., Sepehri H., Delphi L., Attari F. Gallic acid and curcumin induce cytotoxicity and apoptosis in human breast cancer cell MDA-MB-231 // *Bioimpacts.* 2018. 8. (3). 185–194.
69. Morel E., Mehrpour M., Botti J., Dupont N., Hamaï A., Nascimbeni A.C., Codogno P. Autophagy: A druggable process // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2017. 57. (1). 375–398.
70. Na H.-K., Surh Y.-J. Oncogenic potential of Nrf2 and its principal target protein heme oxygenase-1 // *Free Radic. Biol. Med.* 2014. 67. 353–365.
71. Nordgren M., Fransen M. Peroxisomal metabolism and oxidative stress // *Biochimie.* 2014. 98. 56–62.
72. Ooi A., Dykema K., Ansari A., Petillo D., Snider J., Kahnoski R., Anema J., Craig D., Carpten J., Teh B.T., Furge K.A. CUL3 and NRF2 mutations confer an NRF2 activation phenotype in a sporadic form of papillary renal cell carcinoma // *Cancer Res.* 2013. 73. (7). 2044–2051.
73. Orr A.L., Vargas L., Turk C.N., Baaten J.E., Matzen J.T., Dardov V.J., Attle S.J., Li J., Quackenbush D.C., Goncalves R.L.S., Perevoshchikova I.V., Petrassi H.M., Meeusen S.L., Ainscow E.K., Brand M.D. Suppressors of superoxide production from mitochondrial complex III // *Nat. Chem. Biol.* 2015. 11. (11). 834–836.
74. Pandey P., Singh A.K., Singh M., Tewari M., Shukla H.S., Gambhir I.S. The see-saw of Keap1-Nrf2 pathway in cancer // *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2017. 116. 89–98.
75. Rao V.A., Klein S.R., Bonar S.J., Zielonka J., Mizuno N., Dickey J.S., Keller P.W., Joseph J., Kalyanaraman B., Shacter E. The antioxidant transcription factor Nrf2 negatively regulates autophagy and growth arrest induced by the anticancer redox agent mitoquinone // *J. Biol. Chem.* 2010. 285. (45). 34447–34459.
76. Rodic S., Vincent M.D. Reactive oxygen species (ROS) are a key determinant of cancer's metabolic phenotype // *Int. J. Cancer.* 2017. 142. (3). 440–448.
77. Roy K., Wu Y., Meitzler Jennifer L., Juhasz A., Liu H., Jiang G., Lu J., Antony S., Doroshow James H. NADPH oxidases and cancer // *Clin. Sci.* 2015. 128. (12). 863–875.
78. Rybstein M.D., Bravo-San Pedro J.M., Kroemer G., Galluzzi L. The autophagic network and cancer // *Nat. Cell Biol.* 2018. 20. (3). 243–251.
79. Scialò F., Fernández-Ayala D.J., Sanz A. Role of mitochondrial reverse electron transport in ROS signaling: Potential roles in health and disease // *Front. Physiol.* 2017. 8. 428.
80. Shibata T., Ohta T., Tong K.I., Kokubu A., Odogawa R., Tsuta K., Asamura H., Yamamoto M., Hirohashi S. Cancer related mutations in NRF2 impair its recognition by Keap1-Cul3 E3 ligase and promote malignancy // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2008. 105. (36). 13568–13573.

81. Taguchi K., Motohashi H., Yamamoto M. Molecular mechanisms of the Keap1-Nrf2 pathway in stress response and cancer evolution // *Genes Cells*. 2011. 16. (2). 123–140.
82. Takamura A., Komatsu M., Hara T., Sakamoto A., Kishi C., Waguri S., Eishi Y., Hino O., Tanaka K., Mizushima N. Autophagy-deficient mice develop multiple liver tumors // *Genes Dev*. 2011. 25. (8). 795–800.
83. Tanaka M., Miura Y., Numanami H., Karnan S., Ota A., Konishi H., Hosokawa Y., Hanyuda M. Inhibition of NADPH oxidase 4 induces apoptosis in malignant mesothelioma: Role of reactive oxygen species // *Oncol. Rep*. 2015. 34. (4). 1726–1732.
84. Teixeira G., Szyndralewicz C., Molango S., Carnesecchi S., Heitz F., Wiesel P., Wood J.M. Therapeutic potential of NADPH oxidase 1/4 inhibitors // *Br. J. Pharmacol*. 2017. 174. (12). 1647–1669.
85. Thomas D.C. How the phagocyte NADPH oxidase regulates innate immunity // *Free Radic. Biol. Med*. 2018. 125. 44–52.
86. Titova E., Shagieva G., Ivanova O., Domnina L., Domninskaya M., Strelkova O., Khromova N., Kopnin P., Chernyak B., Skulachev V., Dugina V. Mitochondria-targeted antioxidant SkQ1 suppresses fibrosarcoma and rhabdomyosarcoma tumour cell growth // *Cell Cycle*. 2018. 17. (14). 1797–1811.
87. Tripathi D.N., Walker C.L. The peroxisome as a cell signaling organelle // *Curr. Opin. Cell. Biol*. 2016. 39. 109–112.
88. Urra F.A., Muñoz F., Lovy A., Cárdenas C. The mitochondrial complex(I)ty of cancer // *Frontiers in Oncology*. 2017. 7. 118.
89. Walker C.L., Pomatto L.C.D., Tripathi D.N., Davies K.J.A. Redox regulation of homeostasis and proteostasis in peroxisomes // *Physiol. Rev*. 2018. 98. (1). 89–115.
90. Wang B., Fu J., Yu T., Xu A., Qin W., Yang Z., Chen Y., Wang H. Contradictory effects of mitochondria- and non-mitochondria-targeted antioxidants on hepatocarcinogenesis by altering DNA repair in mice // *Hepatology*. 2018. 67. (2). 623–635.
91. Wang Y.Y., Chen J., Liu X.M., Zhao R., Zhe H. Nrf2-mediated metabolic reprogramming in cancer // *Oxid. Med. Cell. Longev*. 2018. 2018. 9304091.
92. Wheaton W.W., Weinberg S.E., Hamanaka R.B., Soberanes S., Sullivan L.B., Anso E., Glasauer A., Dufour E., Mutlu G.M., Budigner G.R.S., Chandel N.S. Metformin inhibits mitochondrial complex I of cancer cells to reduce tumorigenesis // *eLife*. 2014. 3. e02242.
93. Wohlgemuth S.E., Calvani R., Marzetti E. The interplay between autophagy and mitochondrial dysfunction in oxidative stress-induced cardiac aging and pathology // *J. Mol. Cell. Cardiol*. 2014. 71. 62–70.
94. Wu W., Liu F., Wu K., Chen Y., Wu H., Dai G., Zhang W. Lon peptidase 2, peroxisomal (LONP2) contributes to cervical carcinogenesis via oxidative stress // *Med. Sci. Mon*. 2018. 24. 1310–1320.
95. Yamamoto T., Nakano H., Shiomi K., Wanibuchi K., Masui H., Takahashi T., Urano Y., Kamata T. Identification and characterization of a novel NADPH oxidase 1 (Nox1) inhibitor that suppresses proliferation of colon and stomach cancer cells // *Biol. Pharm. Bull*. 2018. 41. (3). 419–426.
96. Zhang J., Sun X., Wang L., Wong Y.K., Lee Y.M., Zhou C., Wu G., Zhao T., Yang L., Lu L., Zhong J., Huang D., Wang J. Artesunate-induced mitophagy alters cellular redox status // *Redox Biol*. 2018. 19. 263–273.
97. Zhou Y., Wu H., Zhao M., Chang C., Lu Q. The Bach family of transcription factors: A comprehensive review // *Clin. Rev. Allergy Immunol*. 2016. 50. (3). 345–356.

FEATURES OF REDOX REGULATION IN TUMOR CELLS

**Nikolay Konstantinovich ZENKOV¹, Peter Mikhaylovich KOZHIN¹,
Aleksandra Vasil'evna VCHERASHNYAYA², Grigory Grigor'evich MARTINOVICH²,
Natal'ya Valer'evna KANDALINTSEVA³, Elena Bronislavovna MENSCHHIKOVA¹**

¹ *Research Institute for Experimental and Clinical and Medicine,
Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine
630117, Novosibirsk, Timakov str., 2*

² *Belarusian State University
220030, Minsk, Nezavisimosti av., 4*

³ *Novosibirsk State Pedagogical University
630126, Novosibirsk, Viluyskaya str., 28*

Endogenous mechanisms of reactive oxygen (ROS) and nitrogen species production and of antioxidant defense systems in tumor cells are analyzed. Increased ROS production is an important regulator of metabolic changes in these cells: enhanced proliferation, apoptosis inhibition, resistance to hypoxia and to cytostatics (doxorubicin, carboplatin, cisplatin, etc.). The most active ROS sources in tumor cells are mitochondria, NAD(P)H oxidases and peroxisomes, which synthesize $O_2^{\cdot-}$ and H_2O_2 . In mitochondria, the superoxide anion radical is generated mainly by complexes I and III; membrane NAD(P)H oxidases Nox1, Nox2, Nox3, and Nox5 produce $O_2^{\cdot-}$, Nox4, and dual oxidases DUOX-1, DUOX-2 – mainly H_2O_2 . Increasing ROS stationary concentration activates endogenous antioxidant defense mechanisms, such as redox-dependent antioxidant response element system Keap1/Nrf2/ARE and autophagy, which allows tumor cells to survive under oxidative stress and may underlie resistance to radio- and chemotherapy. The possibilities of tumor cell redox balance regulation by antioxidants with targeted action and by specific inhibitors of ROS enzymatic production are discussed.

Key words: reactive oxygen (ROS) and nitrogen species, antioxidants, mitochondria, NAD(P)H oxidases, tumor.

Zenkov N.K. – doctor of biological sciences, leading researcher, laboratory of molecular mechanisms of free radical processes, e-mail: lemen@centercem.ru

Kozhin P.M. – researcher, laboratory of molecular mechanisms of free radical processes, e-mail: kozhinpm@gmail.com

Vcherashnyaya A.V. – junior researcher of the department of biophysics, e-mail: tuata_de_danann@mail.ru

Martinovich G.G. – doctor of biological sciences, head of the department of biophysics, e-mail: martinovichgg@bsu.by

Kandalintseva N.V. – candidate of chemical sciences, head of the Institute of Natural and Social and Economic Sciences, e-mail: aquaphenol@mail.ru

Menschchikova E.B. – doctor of medical sciences, head of the laboratory of molecular mechanisms of free radical processes, e-mail: lemen@centercem.ru