

КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ И ФИЗИОЛОГИЯ

CELL BIOLOGY AND PHYSIOLOGY

УДК 54.057:577.2

ВЛИЯНИЕ ЭМОКСИПИНА НА ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ МОНОНУКЛЕАРОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ В УСЛОВИЯХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ С ЦИТАРАБИНОМ И ЦИКЛОЦИТИДИНОМ

Д. Б. НИЖЕГОРОДОВА^{1), 2)}, М. М. ЗАФРАНСКАЯ¹⁾,
Е. И. КВАСЮК¹⁾, А. Г. СЫСА¹⁾

¹⁾Международный государственный экологический институт им. А. Д. Сахарова БГУ,
ул. Долгобродская, 23/1, 220070, г. Минск, Беларусь

²⁾Белорусская медицинская академия последипломного образования,
ул. П. Бровки, 3, корп. 3, 220013, г. Минск, Беларусь

С учетом особой роли окислительного стресса, возрастающего во время химиотерапии опухолей, исследовано влияние антиоксиданта эмоксипина на мононуклеары периферической крови в условиях, моделирующих процессы цитотоксического воздействия антиметаболитов ряда модифицированных цитидиновых нуклеозидов по отношению

Образец цитирования:

Нижегородова ДБ, Зафранская ММ, Квасюк ЕИ, Сыса АГ. Влияние эмоксипина на цитотоксичность мононуклеаров периферической крови в условиях культивирования с цитарабином и циклоцитидином. *Журнал Белорусского государственного университета. Биология*. 2021;2:3–10.
<https://doi.org/10.33581/2521-1722-2021-2-3-10>

For citation:

Nizheharodava DB, Zafranskaya MM, Kvasyuk EI, Sysa AG. Effect of emoxipine on cytotoxicity of peripheral blood mononuclears under cultivation with cytarabine and cyclocytidine. *Journal of the Belarusian State University. Biology*. 2021;2:3–10. Russian.
<https://doi.org/10.33581/2521-1722-2021-2-3-10>

Авторы:

Дарья Борисовна Нижегородова – кандидат биологических наук, доцент; доцент кафедры иммунологии факультета экологической медицины¹⁾, ведущий научный сотрудник, руководитель отдела иммунологии и биомедицинских технологий²⁾.

Марина Михайловна Зафранская – доктор медицинских наук, доцент; заведующий кафедрой иммунологии факультета экологической медицины.

Евгений Иванович Квасюк – доктор химических наук, профессор; профессор кафедры экологической химии и биохимии факультета экологической медицины.

Алексей Григорьевич Сыса – кандидат химических наук, доцент; декан факультета экологической медицины.

Authors:

Darya B. Nizheharodava, PhD (biology), docent; associate professor at the department of immunology, faculty of environmental medicine^a, and leading researcher, head of the department of immunology and biomedical technologies^b.

nzh@tut.by

Marina M. Zafranskaya, doctor of science (medicine), docent; head of the department of immunology, faculty of environmental medicine.

zafranskaya@gmail.com

Eugenii I. Kvasyuk, doctor of science (chemistry), full professor; professor at the department of environmental chemistry and biochemistry, faculty of environmental medicine.

Aliaksei G. Sysa, PhD (chemistry), docent; dean of the faculty of environmental medicine.

aliaksei.sysa@iseu.by





к опухолевой клеточной линии K562. Лимфоидные клетки наряду с этим являлись источником для последующего моделирования реакции иммунного ответа на опухоль. Установлено, что ни сами модифицированные нуклеозиды, ни их комбинации с эмохипином не вызывали изменения IL-2-стимулированной цитотоксичности лимфоидных клеток по отношению к опухолевой клеточной линии K562. Исследование экспрессии маркера CD107a показало значительный стимулирующий эффект 1 мкмоль/л цитарарабина на активацию Т-лимфоцитов ($CD3^+$) и субпопуляцию цитотоксических Т-лимфоцитов ($CD3^+CD8^+$).

Ключевые слова: цитарабин; циклоцитидин; окислительный стресс; эмохипин; цитотоксичность.

Благодарность. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования Республики Беларусь и Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (гранты № X18MB-019, № M20MC-043).

EFFECT OF EMOXIPINE ON CYTOTOXICITY OF PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEARS UNDER CULTIVATION WITH CYTARABINE AND CYCLOCYTIDINE

D. B. NIZHEHARODAVA^{a, b}, M. M. ZAFRANSKAYA^a,
E. I. KVASYUK^a, A. G. SYSЯ^a

^aInternational Sakharov Environmental Institute, Belarusian State University,
23/1 Daūhabrodskaja Street, Minsk 220070, Belarus

^bBelarusian Medical Academy of Postgraduate Education,
3 P. Broўki Street, 3 building, Minsk 220013, Belarus

Corresponding author: A. G. Sysя (aliaksei.sysя@iseu.by)

Taking into account the special role of oxidative stress that increases during cancer chemotherapy, the effect of the antioxidant emoxipine on peripheral blood mononuclears was studied under conditions that simulate the cytotoxic effects of antimetabolites of a number of modified cytidine nucleosides in relation to the tumor cell line K562. Lymphoid cells were also a source for subsequent modelling of the immune response to the cancer. It was found that neither the modified nucleosides themselves nor their combination with emoxipine caused changes in IL-2-stimulated cytotoxicity of lymphoid cells in relation to K562 tumor cell line. A study of the expression of the CD107a marker showed a significant stimulating effect of 1 μmol/L of citarabine on the activation of subpopulations of T-lymphocytes ($CD3^+$) and cytotoxic T-lymphocytes ($CD3^+CD8^+$).

Keywords: цитарабин; циклоцитидин; окислительный стресс; эмохипин; цитотоксичность.

Acknowledgements. This work was supported by Ministry of Education of the Republic of Belarus and Belarusian Republican Fund for Fundamental Researches (grants No. X18MB-019, No. M20MC-043).

Введение

В настоящее время модифицированные нуклеозиды и их аналоги широко применяются в качестве противовирусных или цитостатических препаратов. Попадая в клетку, такие соединения подвергаются ступенчатому фосфорилированию с образованием 5'-трифосфатов нуклеозидов, которые выступают субстратами либо ингибиторами ДНК-полимераз в инфицированной или трансформированной клетке.

Важным аспектом, ограничивающим применение цитостатических препаратов класса модифицированных нуклеозидов, является то, что данные препараты обладают нежелательными побочными эффектами из-за возможного воздействия на генетический аппарат клетки-хозяина. В связи с этим представляется перспективным поиск веществ или их комбинаций (в частности, с антиоксидантами), способствующих снижению интоксикации [1].

Проблеме протективного эффекта вводимых во время химиотерапии антиоксидантов в отношении нетрансформированных здоровых клеток посвящено большое количество исследований. Однако ввиду различий в дизайне исследования, протоколе вмешательства, типе рака, сроках наблюдения, инклюзивных критериях, статистическом анализе и схеме химиотерапии возникает неопределенность, позволяющая сделать окончательный вывод о риске снижения контроля опухоли из-за введения дополнительного антиоксиданта во время химиотерапии. Так, в исследованиях *in vitro* показано, что цитарабин



и другие аналоги нуклеозидов на основе цитозина токсичны для опухолевых клеток за счет повышения уровня клеточного окислительного стресса [2]. Напротив, ряд авторов приходят к однозначному заключению, что при одновременном применении антиоксиданты не мешают химиотерапии; усиливают цитотоксический эффект химиотерапии; защищают нормальные ткани; повышают выживаемость пациентов и терапевтический ответ [3–5].

Однако очень мало известно о том, как комбинации антиметаболитов с антиоксидантами действуют на цитотоксические врожденные и адаптивные иммунные клетки, влияет ли токсичность по отношению к лимфоцитам на их противоопухолевую эффективность. В настоящей работе в условиях *in vitro* исследовано влияние модифицированных нуклеозидов O_{2',2'}-ангидро-1-(β-D-арабинофуранозил)цитозина (циклоцитидин, цикло-Ц) и 1-(β-D-арабинофуранозил)цитозина (цитарабин, ара-Ц) в комбинации с 6-метил-2-этилпиримидином-3 (эмоксипин) – синтетическим производным 3-гидроксипиридинина с сильным антиоксидантным действием – на цитотоксичность лимфоидных клеток в кокультуре с опухолевой клеточной линией человека K562.

Материалы и методы исследования

Получение циклоцитидина (цикло-Ц) и цитарарабина (ара-Ц). Синтез цикло-Ц осуществляли реакцией взаимодействия природного нуклеозида – цитидина – с хлорангидридом ацетилсалациловой кислоты в ацетонитриле с последующим действием соляной кислотой для снятия блокирующих групп в промежуточном продукте (рис. 1). Выделенный кристаллический продукт цикло-Ц в виде его гидрохлорида очищали перекристаллизацией из воды.

Обработка цикло-Ц раствором гидроксида натрия при комнатной температуре с последующей нейтрализацией раствором соляной кислоты приводила к образованию ара-Ц, который выделялся в кристаллическом виде при охлаждении нейтрального раствора.

Продукт дополнительно очищали перекристаллизацией из воды. Соединения цикло-Ц и ара-Ц по всем параметрам совпадали с заведомыми образцами.

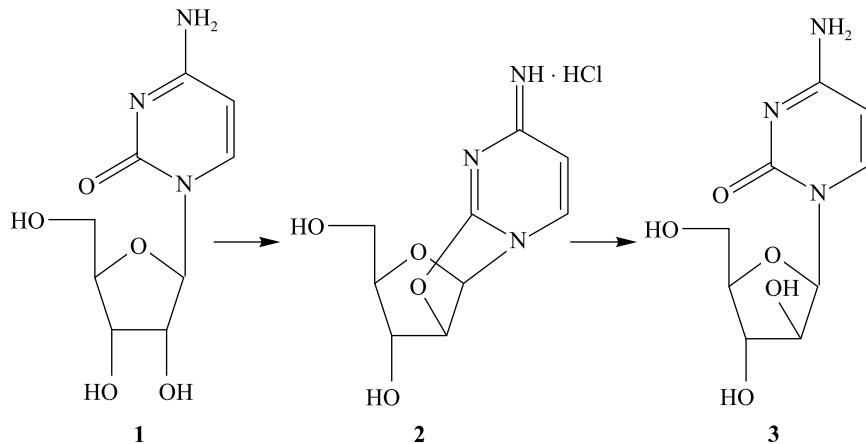


Рис. 1. Схема синтеза цикло-Ц (2) и ара-Ц (3) из цитидина (1)

Fig. 1. Scheme for the synthesis of cyclocytidine (2) and cytarabine (3) from cytidine (1)

Выделение мононуклеаров периферической крови (МПК). Материалом исследования явилась периферическая венозная кровь здоровых доноров ($n = 15$, из них 8 мужчин и 7 женщин), средний возраст которых составил 42,5 (39,0–47,5) года.

Периферическую кровь отбирали в стерильные пробирки с гепарином, разводили физиологическим раствором в соотношении 1 : 1, насыщали на градиент плотности Histopaque-1077 (*Sigma*, Германия) и центрифугировали в течение 30 мин при 1500 об/мин и 4 °C. Образовавшееся интерфазное кольцо МПК отбирали в стерильные пробирки и дважды отмывали в физиологическом растворе в течение 10 мин при 1500 об/мин и 4 °C.

Культивирование МПК. Полученные МПК в концентрации $2 \cdot 10^5$ клеток на лунку культивировали в полной питательной среде на основе RPMI-1640 (*Bio-Whittaker*, США), 10 % эмбриональной телячьей сыворотки (*Gibco*, Германия), 2 ммоль/л L-глютамина (*Bio-Whittaker*), 1 % антибиотика-антибиотика (*Gibco*) в присутствии цикло-Ц и ара-Ц в концентрациях 1 мкмоль/л или без них (контрольные культуры) в течение 72 ч. Для стимуляции цитотоксичности МПК в кокультуре вводили интерлейкин-2 (*IL-2*, *Fluka*, Германия) в конечной концентрации 100 МЕ/мл.



Для оценки цитотоксичности к 3-дневной культуре МПК добавляли клетки-мишени – опухолевую клеточную линию человека K562, окрашенную флуоресцентным красителем 6-карбоксифлуоресцеина сукцинимидловым эфиром (CFSE, *Fluka*), – в соотношении 5 : 1 и культивировали 4 ч. В кокультуры, в которых впоследствии оценивалась экспрессия мембранных протеина 1, ассоциированного с лизосомами (*lysosomal-associated membrane protein 1*, LAMP1), также добавляли ингибитор трансмембранного транспорта брефельдин А (*Fluka*) и моноклональные антитела CD107a (*R & D Systems*, США).

Метод проточной цитофлуориметрии. Процент гибели клеток-мишени K562 в результате цитотоксичности МПК в кокультурах определяли путем добавления катионного красителя пропидий йодида (PI, *Invitrogen*, Германия) и идентификации нежизнеспособных клеток опухолевой линии как CFSE⁺PI⁺K562 с использованием проточного цитофлуориметра Cytoflex (*Beckman Coulter*, США) на 50 000 событий. Коэффициент стимуляции цитотоксичности рассчитывали как отношение процента клеточной гибели K562 в кокультуре с МПК, стимулированными IL-2, к аналогичному показателю в кокультуре с нестимулированными МПК.

Фенотипирование МПК осуществляли с использованием моноклональных антител CD8-FITC, CD107a-PE, CD3-APC, CD56-PC7 (*R & D Systems, Beckman Coulter*), которыми окрашивали пробы в течение 15 мин в темноте. Результаты регистрировали на проточном цитофлуориметре Cytoflex как количество CD107a-позитивных клеток на 50 000 событий.

Статистический анализ. Статистическую обработку данных проводили с применением стандартного пакета *Statistica 8.0* (*StatSoft Inc.*, США). Для описательной статистики исследуемых групп использовали показатели медианы, нижнего и верхнего процентилей (25-й и 75-й процентили). Определение достоверных различий между сравниваемыми группами осуществляли непараметрическим критерием Вилкоксона. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Для оценки эффектов цикло-Ц, ара-Ц и их комбинаций с эмоксипином на спонтанную и IL-2-стимулированную цитотоксичность лимфоидных клеток по отношению к опухолевой клеточной линии K562 использовали процент погибших клеток K562, детектируемых как CFSE⁺PI⁺K562. В условиях стимуляции IL-2 наблюдалось статистически значимое увеличение эффектов цитотоксичности МПК во всех исследуемых культурах.

Показано, что ара-Ц в 2,1 раза ингибирует нестимулированную цитотоксичность МПК ($p < 0,05$), а его комбинация с эмоксипином на 57,6 % ослабляет данный ингибиторный эффект. В то же время цикло-Ц, как и его комбинация с эмоксипином, не влияет на цитотоксичность в условиях эксперимента. Оценка эффектов ара-Ц и цикло-Ц и их комбинаций с эмоксипином на IL-2-стимулированную цитотоксичность МПК не выявила статистически значимых различий, однако прослеживалась тенденция ингибиторного эффекта соединений (табл. 1).

Таблица 1

Количество нежизнеспособных клеток CFSE⁺PI⁺K562 в кокультурах с нестимулированными и IL-2-стимулированными МПК в присутствии модифицированных нуклеозидов и эмоксипина, %

Table 1

Number of non-viable cells CFSE⁺PI⁺K562 in cocultures with unstimulated and IL-2-stimulated peripheral blood mononuclear cells after exposure to cytarabine or cyclophosphamide and emoxipine, %

Условия культивирования	Спонтанная цитотоксичность	IL-2-стимулированная цитотоксичность
Контроль	19,7 (15,6–22,0)	41,1 (40,0–43,2)
Ара-Ц	9,2* (7,0–10,7)	38,8 (36,2–42,4)
Цикло-Ц	18,8 (15,2–21,7)	39,9 (38,7–41,1)
Эмоксипин	19,7 (16,8–19,9)	38,3 (37,1–39,8)



Окончание табл. 1
Ending table 1

Условия культивирования	Спонтанная цитотоксичность	IL-2-стимулированная цитотоксичность
Ара-Ц + эмоксипин	14,5 (5,8–32,9)	39,3 (34,3–44,1)
Цикло-Ц + эмоксипин	21,5 (15,0–26,3)	38,4 (35,6–42,6)

При мечани е. Клетки в кокультуре инкубировали 4 ч в присутствии флуоресцентного красителя CFSE и 1 мкмоль/л цикло-Ц (или) ара-Ц отдельно либо совместно с 1 мкмоль/л эмоксипином. Каждое значение – медиана, 25-й и 75-й процентили погибших клеток K562, рассчитанные в процентах от общей популяции клеток; * – достоверное отличие от контроля ($p < 0,05$).

Экспрессия CD107a на лимфоидных клетках в кокультуре с K562 при культивировании с модифицированными нуклеозидами и их комбинациями с эмоксипином в условиях стимуляции IL-2. Метод оценки экспрессии CD107a позволяет измерять цитотоксическую активность на уровне клетки в конкретной популяции эффекторных клеток.

Показано, что экспрессия CD107a статистически значимо увеличивалась на всех лимфоидных популяциях с потенциальной цитотоксичностью в присутствии K562 (наиболее выражено на НК-клетках: 39,48 и 1,35 %, $p < 0,05$) (табл. 2).

Таблица 2

Экспрессия CD107a на IL-2-стимулированных цитотоксических лимфоидных клетках, культивируемых в присутствии и отсутствии K562, %

Table 2

CD107a expression on IL-2-stimulated cytotoxic lymphoid cells cultured in the presence and absence of K562, %

Условия культивирования	НК-клетки (CD56 ⁺ CD107a ⁺)	Т-клетки (CD3 ⁺ CD107a ⁺)	Цитотоксические Т-клетки (CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD107a ⁺)
МПК (контроль)	1,35 (1,25–4,93)	0,86 (0,69–1,62)	0,79 (0,41–1,22)
МПК + K562	39,48* (38,33–40,60)	2,11* (1,29–2,52)	1,78* (0,92–1,97)

*Достоверное отличие от контроля ($p < 0,05$).

На рис. 2 представлены результаты измерения уровня экспрессии CD107a на Т-лимфоцитах (CD3⁺), цитотоксических Т-лимфоцитах (CD3⁺CD8⁺), естественных киллерных клетках (CD56⁺) при культивировании в кокультуре с клетками K562 отдельно или в присутствии цикло-Ц, ара-Ц и их комбинаций с эмоксипином.

Как видно из данных, представленных на рис. 2, добавление ара-Ц статистически значимо усиливало IL-2-стимулированную экспрессию CD107a на Т-лимфоцитах (CD3⁺) (в 2,1 раза) и цитотоксических Т-лимфоцитах (CD3⁺CD8⁺) (на 47,5 %), но не на естественных киллерных клетках (CD56⁺). При этом цитотоксический эффект модифицированных нуклеозидов увеличивался при добавлении в культуральную смесь эмоксипина. Так, при кокультивировании клеток с 1 мкмоль/л ара-Ц и 1 мкмоль/л эмоксипином удельный вес CD3⁺CD107a⁺-клеток увеличился в 3,5 раза по сравнению с контролем (МПК + K562), а в случае CD3⁺CD8⁺CD107a⁺-клеток – в 2,0 раза. Полученные результаты свидетельствуют о возможности прямой защиты цитотоксических лимфоцитов от гибели в условиях вызываемого противоопухолевой химиотерапией окислительного стресса антиоксидантом эмоксипином. Отметим, что цикло-Ц не оказывал выраженного влияния, в то время как в случае комбинации с эмоксипином наблюдалась тенденция к повышению экспрессии CD107a на Т-лимфоцитах (CD3⁺) (на 69,6 %) и цитотоксических Т-лимфоцитах (CD3⁺CD8⁺) (на 43,4 %).

Известно, что противоопухолевая терапия сопровождается значительными побочными эффектами, что существенно влияет на течение, прогноз и эффективность лечения заболеваний [6; 7]. Многие из них напрямую связаны с процессами свободнорадикального окисления, значительно возрастающими во время химиотерапии опухолей. Так, нарушение баланса между свободными радикалами и антиоксидантной системой способно усиливать интоксикацию и даже приводить к токсическому

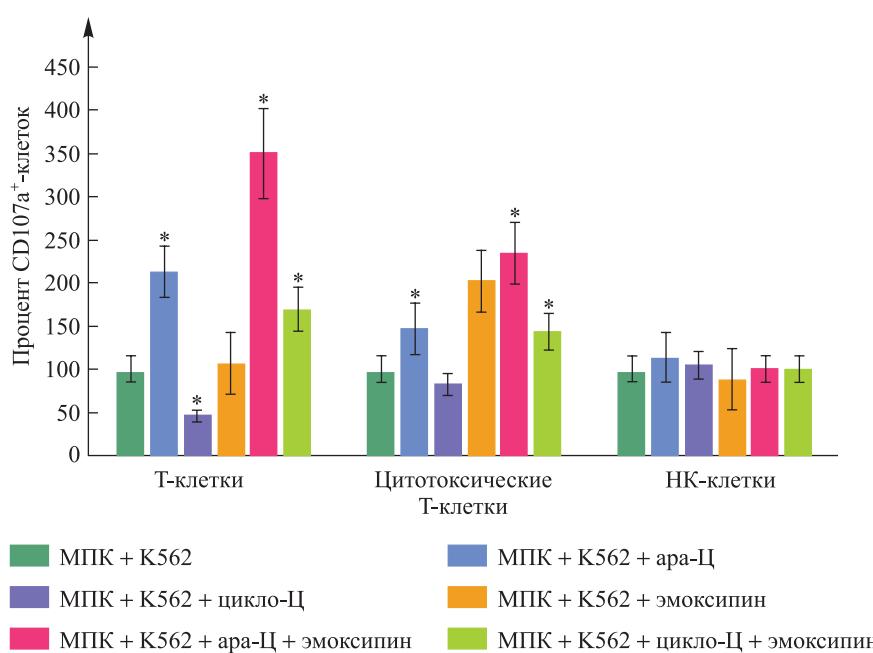


Рис. 2. Процент (по сравнению с контролем (МПК + K562)) CD107a⁺-лимфоидных клеток в кокультуре с клеточной линией K562 при культивировании с ара-Ц, цикло-Ц и их комбинациями с эмоксипином (– достоверное отличие от контроля ($p < 0,05$))*

Fig. 2. Percentage (compared to control (PBMC + K562)) of CD107a⁺-lymphoid cells in coculture with K562 cell line when cultured after exposure to cytarabine or cyclocytidine and emoxipine (– significant level compared to the control ($p < 0.05$))*

повреждению здоровых органов и тканей, что оказывается лимитирующим фактором при решении вопроса о продолжении терапии [8; 9]. Необходимо учитывать, что у онкологических пациентов со злокачественной опухолью уже активированы процессы перекисного окисления липидов [10].

Однако широкому использованию антиоксидантных препаратов в клинической практике препятствует их недостаточно изученное взаимодействие с элементами современной общепринятой схемы комплексного химиотерапевтического лечения онкологических пациентов [11–13]. И хотя ряд работ отражают возможность повышения противоопухолевой эффективности отдельных цитостатиков при их комбинированном применении с антиоксидантами, полученные результаты не могут быть перенесены на все компоненты комплексного химиотерапевтического лечения и нуждаются в дальнейших подобных исследованиях, касающихся конкретных схем комбинированного применения [14; 15]. В настоящей работе для защиты здоровых немалигнанизированных клеток при воздействии антиметаболитов на опухолевую культуру использовали сильный антиоксидант эмоксипин. В качестве модели здоровых клеток выступали лимфоциты периферической крови, которые наряду с этим являлись источником для последующего моделирования реакции иммунного ответа на опухоль. При этом были получены результаты, указывающие на возможность применения антиоксидантов как для защиты здоровых клеток от гибели в условиях вызываемого противоопухолевой химиотерапией окислительного стресса, так и в роли модулятора противоопухолевой активности цитотоксических Т-лимфоцитов.

В настоящем исследовании ни модифицированные нуклеозиды, ни их комбинации с эмоксипином не вызывали изменения IL-2-стимулированной цитотоксичности лимфоидных клеток по отношению к опухолевой клеточной линии K562, что не противоречит известным данным. Однако по экспрессии маркера CD107a нам удалось доказать выраженное влияние ара-Ц на активацию субпопуляции Т-лимфоцитов (CD3⁺) и цитотоксических Т-лимфоцитов (CD3⁺CD8⁺), которое потенцировалось эмоксипином.

Заключение

В результате выполненных исследований проведена оценка влияния модифицированных нуклеозидов ара-Ц и цикло-Ц на цитотоксичность лимфоидных киллерных клеток человека.

Установлено, что ара-Ц в 2,1 раза ингибирует нестимулированную цитотоксичность МПК, а его комбинация с эмоксипином на 57,6 % ослабляет данный ингибиторный эффект. В то же время цикло-Ц, как и его комбинация с эмоксипином, не влияет на цитотоксичность в условиях эксперимента.



Оценка эффектов ара-Ц и цикло-Ц и их комбинаций с эмоксипином на IL-2-стимулированную цитотоксичность МПК не выявила статистически значимых различий, однако прослеживалась тенденция ингибиторного эффекта соединений.

Показано, что добавление ара-Ц статистически значимо усиливало IL-2-стимулированную экспрессию CD107a на Т-лимфоцитах ($CD3^+$) (в 2,1 раза) и цитотоксических Т-лимфоцитах ($CD3^+CD8^+$) (на 47,5 %), но не на естественных киллерных клетках ($CD56^+$). При этом цитотоксический эффект модифицированных нуклеозидов увеличивался при добавлении в культуральную смесь эмоксипина.

Таким образом, продемонстрировано, что вещества, регулирующие протекание окислительно-восстановительных реакций, способны снижать токсические эффекты антиметаболитов по отношению к нормальнм клеткам.

Библиографические ссылки

1. Tsesmetzis N, Paulin CBJ, Rudd SG, Herold N. Nucleobase and nucleoside analogues: resistance and re-sensitisation at the level of pharmacokinetics, pharmacodynamics and metabolism. *Cancers*. 2018;10(7):240. DOI: 10.3390/cancers10070240.
2. Hewish M, Martin SA, Elliott R, Cunningham D, Lord CJ, Ashworth A. Cytosine-based nucleoside analogs are selectively lethal to DNA mismatch repair-deficient tumour cells by enhancing levels of intracellular oxidative stress. *British Journal of Cancer*. 2013;108(4):983–992. DOI: 10.1038/bjc.2013.3.
3. Singh K, Bhori M, Kasu YA, Bhat G, Marar T. Antioxidants as precision weapons in war against cancer chemotherapy induced toxicity – exploring the armoury of obscurity. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2018;26(2):177–190. DOI: 10.1016/j.jps.2017.12.013.
4. Simone CB 2nd, Simone NL, Simone V, Simone CB. Antioxidants and other nutrients do not interfere with chemotherapy or radiation therapy and can increase kill and increase survival, part 1. *Alternative Therapies in Health and Medicine*. 2007;13(1):22–28.
5. Simone CB 2nd, Simone NL, Simone V, Simone CB. Antioxidants and other nutrients do not interfere with chemotherapy or radiation therapy and can increase kill and increase survival, part 2. *Alternative Therapies in Health and Medicine*. 2007;13(2):40–47.
6. Wright AA, Bohlke K, Armstrong DK, Bookman MA, Cliby WA, Coleman RL, et al. Neoadjuvant chemotherapy for newly diagnosed, advanced ovarian cancer: Society of Gynecologic Oncology and American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline. *Journal of Clinical Oncology*. 2016;34(28):3460–3473. DOI: 10.1200/JCO.2016.68.6907.
7. Неродо ГА, Златник ЕЮ, Новикова ИА, Арджа АЮ, Вереникина ЕВ, Никитина ВП и др. Неоадьювантная химиоиммунотерапия неоперабельных форм рака яичников. *Казанский медицинский журнал*. 2018;99(1):10–16. DOI: 10.17816/KMJ2018-010.
8. Павлов ВН, Рахматуллина ИР, Фархутдинов РР, Пушкарев ВА, Данилко КВ, Галимова ЭФ и др. Свободнорадикальное окисление и канцерогенез: дискуссионные вопросы. *Креативная хирургия и онкология*. 2017;7(2):54–61. DOI: 10.24060/2076-3093-2017-7-2-54-61.
9. Мартинович ГГ, Мартинович ИВ, Голубева ЕН, Черенкович СН, Демидчик ЮЕ, Гайн ЮМ и др. Редокс-биотехнологии как основа для новой стратегии в противоопухолевой терапии. *Известия Национальной академии наук Беларусь. Серия медицинских наук*. 2012;2:85–104.
10. Панибрат ОВ, Жабинский ВН, Хрипач ВА. Влияние комбинации цисплатина с брассиностероидами на рост раковых клеток. *Доклады Национальной академии наук Беларусь*. 2019;63(4):437–444. DOI: 10.29235/1561-8323-2019-63-4-437-444.
11. Victorino VJ, Pizzatti L, Michelletti P, Panis C. Oxidative stress, redox signaling and cancer chemoresistance: putting together the pieces of the puzzle. *Current Medicinal Chemistry*. 2014;21(28):3211–3226. DOI: 10.2174/092986732166140601164647.
12. Dayem AA, Hye-Yeon Choi, Jung-Hyun Kim, Ssang-Goo Cho. Role of oxidative stress in stem, cancer, and cancer stem cells. *Cancers*. 2010;2(2):859–884. DOI: 10.3390/cancers2020859.
13. Sharifi N. Commentary: antioxidants for cancer: new tricks for an old dog? *The Oncologist*. 2009;14(3):213–215. DOI: 10.1634/theoncologist.2008-0219.
14. Mahalingaiah PKS, Singh KP. Chronic oxidative stress increases growth and tumorigenic potential of MCF-7 breast cancer cells. *Plos One*. 2014;9(1):e87371. DOI: 10.1371/journal.pone.0087371.
15. Amber KT, Shiman MI, Badiavas EV. The use of antioxidants in radiotherapy-induced skin toxicity. *Integrative Cancer Therapies*. 2014;13(1):38–45. DOI: 10.1177/1534735413490235.

References

1. Tsesmetzis N, Paulin CBJ, Rudd SG, Herold N. Nucleobase and nucleoside analogues: resistance and re-sensitisation at the level of pharmacokinetics, pharmacodynamics and metabolism. *Cancers*. 2018;10(7):240. DOI: 10.3390/cancers10070240.
2. Hewish M, Martin SA, Elliott R, Cunningham D, Lord CJ, Ashworth A. Cytosine-based nucleoside analogs are selectively lethal to DNA mismatch repair-deficient tumour cells by enhancing levels of intracellular oxidative stress. *British Journal of Cancer*. 2013;108(4):983–992. DOI: 10.1038/bjc.2013.3.
3. Singh K, Bhori M, Kasu YA, Bhat G, Marar T. Antioxidants as precision weapons in war against cancer chemotherapy induced toxicity – exploring the armoury of obscurity. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2018;26(2):177–190. DOI: 10.1016/j.jps.2017.12.013.
4. Simone CB 2nd, Simone NL, Simone V, Simone CB. Antioxidants and other nutrients do not interfere with chemotherapy or radiation therapy and can increase kill and increase survival, part 1. *Alternative Therapies in Health and Medicine*. 2007;13(1):22–28.
5. Simone CB 2nd, Simone NL, Simone V, Simone CB. Antioxidants and other nutrients do not interfere with chemotherapy or radiation therapy and can increase kill and increase survival, part 2. *Alternative Therapies in Health and Medicine*. 2007;13(2):40–47.
6. Wright AA, Bohlke K, Armstrong DK, Bookman MA, Cliby WA, Coleman RL, et al. Neoadjuvant chemotherapy for newly diagnosed, advanced ovarian cancer: Society of Gynecologic Oncology and American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline. *Journal of Clinical Oncology*. 2016;34(28):3460–3473. DOI: 10.1200/JCO.2016.68.6907.



7. Nerodo GA, Zlatnik EYu, Novikova IA, Ardzha AYu, Verenikina EV, Nikitina VP, et al. Neoadjuvant chemoimmunotherapy for inoperable ovarian cancer. *Kazan Medical Journal*. 2018;99(1):10–16. Russian. DOI: 10.17816/KMJ2018-010.
8. Pavlov VN, Rakhmatullina IR, Farkhutdinov RR, Pushkarev VA, Danilko KV, Galimova EF, et al. Free radical oxidation and carcinogenesis: debatable issues. *Creative Surgery and Oncology*. 2017;7(2):54–61. Russian. DOI: 10.24060/2076-3093-2017-7-2-54-61.
9. Martinovich GG, Martinovich IV, Golubeva EN, Cherenkevich SN, Demidchik YE, Gain YM, et al. Redox biotechnologies as the basis for a new strategy in anticancer therapy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*. 2012;2:85–104. Russian.
10. Panibrat OV, Zhabinskii VN, Khrapach VA. Effect of combination of cisplatin with brassinosteroids on the growth of cancer cells. *Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*. 2019;63(4):437–444. Russian. DOI: 10.29235/1561-8323-2019-63-4-437-444.
11. Victorino VJ, Pizzatti L, Michelletti P, Panis C. Oxidative stress, redox signaling and cancer chemoresistance: putting together the pieces of the puzzle. *Current Medicinal Chemistry*. 2014;21(28):3211–3226. DOI: 10.2174/092986732166140601164647.
12. Dayem AA, Hye-Yeon Choi, Jung-Hyun Kim, Ssang-Goo Cho. Role of oxidative stress in stem, cancer, and cancer stem cells. C12. Dayem AA, Hye-Yeon Choi, Jung-Hyun Kim, Ssang-Goo Cho. Role of oxidative stress in stem, cancer, and cancer stem cells. *Cancers*. 2010;2(2):859–884. DOI: 10.3390/cancers2020859.
13. Sharifi N. Commentary: antioxidants for cancer: new tricks for an old dog? *The Oncologist*. 2009;14(3):213–215. DOI: 10.1634/theoncologist.2008-0219.
14. Mahalingaiah PKS, Singh KP. Chronic oxidative stress increases growth and tumorigenic potential of MCF-7 breast cancer cells. *Plos One*. 2014;9(1):e87371. DOI: 10.1371/journal.pone.0087371.
15. Amber KT, Shiman MI, Badiavas EV. The use of antioxidants in radiotherapy-induced skin toxicity. *Integrative Cancer Therapies*. 2014;13(1):38–45. DOI: 10.1177/1534735413490235.

Получена 14.10.2020 / принята 07.04.2021.
Received 14.10.2020 / accepted 07.04.2021.