

*АГЛЯДЫ*

УДК 576.3:616-006

Г. Г. МАРТИНОВИЧ<sup>1</sup>, И. В. МАРТИНОВИЧ<sup>1</sup>, Е. Н. ГОЛУБЕВА<sup>1</sup>, С. Н. ЧЕРЕНКЕВИЧ<sup>1</sup>,  
Ю. Е. ДЕМИДЧИК<sup>2</sup>, Ю. М. ГАИН<sup>2</sup>, Т. Э. ВЛАДИМИРСКАЯ<sup>2</sup>, М. Л. ЛУЩИК<sup>2</sup>

**РЕДОКС-БИОТЕХНОЛОГИИ КАК ОСНОВА ДЛЯ НОВОЙ СТРАТЕГИИ  
В ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ**

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, Минск,

<sup>2</sup>Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск

(Поступила в редакцию 08.12.2011)

**Молекулярно-генетические механизмы регуляции свойств клеток опухолевых тканей.** Поиск эффективных методов лечения и профилактики онкологических заболеваний является одной из наиболее актуальных проблем в медицине, затрагивающей в то же время и социальные аспекты. Смертность от онкологических заболеваний занимает в мире второе место после заболеваний сердечно-сосудистой системы. Между тем до сих пор не существует общепринятой теории канцерогенеза.

В современном понимании канцерогенез представляет многоэтапный процесс трансформации клеток здоровой ткани, приводящий к злокачественным образованиям. Большинство исследователей считают, что в основе образования любой опухоли лежат необратимые изменения генома в определенной популяции клеток. Согласно теории онкогенов, ключевую роль в процессе трансформации нормальной клетки в опухолевую играют нарушения функции протоонкогенов и опухолевых супрессоров. В последние годы достигнут значительный прогресс в идентификации генов и выяснении роли продуктов этих генов в процессах развития опухолей. Это позволило определить такие важнейшие свойства, характерные для клеток опухолевых тканей, как высокая пролиферативная активность, иммортализация и ослабление индукции апоптоза [3].

Пролиферативная способность опухолевых клеток связана с изменениями в системах внутриклеточной сигнализации. С одной стороны, вероятно, в отсутствие факторов роста в трансформированных клетках запускается каскад событий, аналогичный тому, который в норме инициируется связыванием фактора роста со своим рецептором. С другой стороны, внешние сигналы, регулирующие дифференцировку и апоптоз, могут восприниматься опухолевыми клетками как митогенные сигналы. Наряду с этим трансформированные клетки обладают пониженной чувствительностью к антипролиферативным сигналам. Классическим примером является отсутствие контактного торможения роста для опухолевых клеток. Последние менее чувствительны к действию рост-ингибирующих цитокинов и факторов противоопухолевого иммунитета.

Показано, что действие многих онкогенов и опухолевых супрессоров направлено на регуляцию активности участников передачи митогенных сигналов в клетке, среди которых факторы роста (PDGF-b, FGF1 и др.), рецепторные тирозинкиназы (Ret, EGFR и др.), G-белки семейства Ras (K-Ras, H-Ras и N-Ras), серинтреониновые киназы (Raf и Mos), факторы транскрипции (Jun, Mys, Ets1 и др.) и циклин D1 [183]. Основными субстратами комплексов циклин D-Cdk4 и циклин D-Cdk6, регулирующих пресинтетическую фазу деления клетки G<sub>1</sub>, являются продукты опухолевых супрессоров – белок pRb и pRb-подобные белки p105 и p103. В неделящихся клетках pRb и его гомологи не фосфорилированы и связывают факторы транскрипции E2F (E2F-1–E2F-5)

и DP (DP-1–DP-5). После фосфорилирования pRb циклинзависимой киназой происходит диссоциация комплекса. Несвязанный с pRb фактор транскрипции E2F-DP регулирует активность ряда генов, среди которых гены циклинов E, A, Cdk1, Cdk2, ДНК-полимеразы  $\alpha$  и др. Модулируя активность фактора транскрипции E2F-DP и регулируемых им генов, pRb играет ключевую роль в контроле последовательности событий, обеспечивающих переход клетки из G<sub>1</sub>-фазы в S-фазу. Инактивация гена *Rb* была обнаружена при ретинобластомах, остеосаркомах, при остром лейкозе, раке мочевого пузыря, простаты и др.

В опухолевых тканях нарушена регуляция апоптоза. Несмотря на разнообразие инициирующих факторов, выделяют два основных пути трансдукции сигналов апоптоза: рецептор-зависимый сигнальный путь с участием рецепторов гибели клетки и митохондриальный путь. При инициации первого пути в результате связывания специфических лигандов со своими рецепторами активируются каспаза 8 и адаптерные белки. Митохондриальный путь инициируется в основном повреждающими воздействиями, вызывающими увеличение проницаемости митохондриальной мембраны и выход в цитоплазму митохондриальных белков, включая цитохром *c* и флавопротеин AIF (apoptosis inducing factor). Проницаемость митохондриальной мембраны регулируется белками семейства Bcl2 и Bax [67]. Предполагается, что молекулы Bcl2 и Bcl-x закрывают каналы, через которые осуществляется выброс цитохрома *c* и/или AIF [18]. Белок Bax стимулирует открытие канала VDAC (voltage dependent anion channel), через который секретируются цитохром *c* и AIF. Регулятором активности белков семейства Bcl2 и Bax является продукт опухолевого супрессора – фактор транскрипции p53. Инактивация функции белка p53 является наиболее универсальным процессом, ведущим к молекулярным изменениям в различных новообразованиях человека. Активация p53 наблюдается при разнообразных стрессах и внутриклеточных нарушениях, включая гипоксию, гипо- и гипертермию, окислительный стресс, повреждения ДНК, снижение внутриклеточного пула нуклеотидов, ингибировании ДНК- и РНК-полимераз и т. д. Белок p53 осуществляет активацию гена *bax* и репрессию гена *bcl-2*. Наряду с этим p53 активирует гены ряда «киллерных» рецепторов, среди которых гены Fas-рецептора и рецептора KILLER/DR5, и повышает активность ряда генов, продукты которых способствуют накоплению в клетках окислителей. Активированный белок p53 супрессирует транскрипцию ряда генов, включая ген каталитической субъединицы теломеразы (TERT – telomerase reverse transcriptase). Следует отметить, что отсутствие в опухолевых (а также в стволовых) клетках человека репликативного старения (или иммортализации) связано с включением специального механизма, в основе которого лежит активация фермента теломеразы TERT, достраивающего недо-реплицированные теломерные повторы. Включение экспрессии TERT индуцируется изменением экспрессии онкогенов или опухолевых супрессоров [20].

Предполагается, что понимание механизмов геномных изменений, ведущих к перерождению клеток, позволит создать эффективные противоопухолевые методы на основе генной терапии. Однако серьезным препятствием для использования генной терапии в борьбе с раком является многочисленность геномных изменений (среднее число геномных изменений на клетку карциномы составляет примерно 11 000) [156] и генетическая вариабельность опухолевых клеток.

В последнее время наряду с геномными нарушениями важную роль в канцерогенезе отводят изменениям метаболизма кислорода [107], что является современным развитием концепции О. Варбурга [185]. Переключение метаболизма с окислительного фосфорилирования на гликолиз связывают с повышенным образованием активных форм кислорода (АФК) [108]. При интенсификации метаболизма глюкозы усиливается перенос электронов на НАДФН (через пентозофосфатный путь) и GSH (с участием глутатионредуктазы). В результате в опухолевых клетках изменяется редокс-гомеостаз [10, 11], характеризуемый, как правило, повышенным содержанием восстановителей (антиоксидантов).

Различия в подходах к проблеме опухолеобразования привели к появлению двух противоположных взглядов на канцерогенез: теории онкогенов и тканевой теории рака [13]. К настоящему времени известно около сотни потенциальных онкогенов и около двух десятков опухолевых супрессоров. Однако до сих пор остаются необоснованными механизмы регуляции активности этих генов при действии различных по природе канцерогенных факторов, т. е. в теории онкоге-

нов до сих пор не выявлен механизм «общего знаменателя», который, унифицируя действие различных канцерогенов, приводит к единому конечному результату. В тканевой теории рака в качестве общего канцерогенного фактора рассматривается длительный режим компенсаторной пролиферации (индуцируемый различными факторами), который разрушает систему тканевого контроля. Новые представления о роли окислительно-восстановительных процессов в регуляции клеточных процессов, появившиеся в последние годы, позволяют выделить в качестве ключевой характеристики трансформированных тканей нарушения клеточного и тканевого редокс-гомеостаза. Нарушения редокс-гомеостаза индуцируют изменения как внеклеточной сигнализации (тканевая теория рака), так и внутриклеточной сигнализации (теория онкогенов), вызывая в конечном итоге трансформацию клеток.

В настоящем обзоре обобщены и проанализированы современные данные о различиях клеточного и тканевого редокс-гомеостаза, редокс-сигнализации в опухолевых и нормальных клетках, описаны механизмы трансформации нормальных клеток, протекающие с участием АФК. Особое внимание уделено новым технологиям в области противоопухолевой терапии, базирующимся на редокс-регуляции клеточных процессов.

**Метаболизм кислорода и биоэнергетика трансформированных клеток.** Регуляция редокс-процессов в трансформированных и нетрансформированных клетках определяется метаболизмом кислорода и зависит от активности ряда митохондриальных ферментов. Митохондрии участвуют во многих клеточных процессах, включая регуляцию метаболизма, кальциевого гомеостаза, внутриклеточной сигнализации и апоптоза. Следует отметить, что с нарушениями функционирования митохондрий связывают развитие многих заболеваний, включая нейродегенеративные и онкологические заболевания, некоторые формы сахарного диабета, нейропатию Лебера, митохондриальную энцефалопатию и др. [72]. Наряду с этим митохондрии рассматривают в качестве ключевой мишени противоопухолевой терапии [76].

При увеличении скорости пролиферации клеток происходит перестройка метаболизма, в результате которой усиливаются анаболические процессы. Полное окисление аминокислот, углеводов и жирных кислот до  $H_2O$  и  $CO_2$  осуществляется ферментами митохондрий. Поэтому для усиления процессов биосинтеза в процессах клеточного деления необходимо снижение активности ряда митохондриальных ферментов. Показано, что в опухолевых клетках наблюдается снижение активности ферментов цикла трикарбоновых кислот в результате выхода из митохондрий цитрата, который затем используется в синтезе жирных кислот и холестерина [74]. Обнаружено также, что ингибирование окислительного фосфорилирования в результате гипоксии и повышение концентрации глюкозы стимулирует рост мезенхимальных стволовых клеток [81]. С использованием различных типов опухолевых клеток установлено, что скорость их деления зависит от активности ферментов дыхательной цепи [152]. В быстро делящихся клетках активность ферментов дыхательной цепи ниже, чем в медленно делящихся клетках. S. Galli и соавт. [62] показали также, что активность электрон-транспортных комплексов I–IV, Mn-супероксид-дисмутазы (Mn-SOD) и митохондриальной NO-синтазы (mtNOS) в клетках аденокарциномы линий M3, MM3 и P07 в несколько раз ниже, чем активность этих ферментов в гепатоцитах. Для многих типов опухолей модификация митохондриального аппарата клеток включают также уменьшение числа митохондрий [52], ингибирование пируватдегидрогеназного комплекса [95], изменения формы и размеров митохондрий [16], снижение экспрессии  $\beta$ -субъединицы  $H^+$ -АТФ-синтазы [51] и накопление мутаций в митохондриальной ДНК [44]. Нарушение в работе митохондриального аппарата клетки стимулирует метаболизм глюкозы путем анаэробного гликолиза (табл. 1). В условиях *in vitro* и *in vivo* показано, что транспорт глюкозы в опухолевые клетки увеличивается, в результате чего стимулируется не только субстратное фосфорилирование, но и образование в пентозофосфатном пути главного донора электронов для биосинтеза – НАДФН [24]. Клетки опухоли, культивируемые в глюкозосодержащей среде, способны производить в 40 раз больше лактата, чем нормальные клетки [83]. В результате высокой скорости образования лактата опухолевыми клетками во внеклеточной среде снижается величина pH. Кислотно-основное равновесие в опухолевых клетках в сравнении с нормальными клетками также изменяется: внутриклеточное pH в них увеличивается [42]. Интенсификация гликолиза в опухолевых

Т а б л и ц а 1. Характеристика метаболизма, редокс-систем и редокс-факторов нормальных и трансформированных клеток\*

Показатель	Клетки тканей в норме	Опухолевые клетки
АТФ	Источником АТФ является субстратное и окислительное фосфорилирование	Образование АТФ увеличено за счет субстратного фосфорилирования
Активность транспортеров глюкозы	100%	> 1000%
Активность гексокиназы	100%	> 1000%
Величина внутриклеточного pH	6.90–7.20	7.10–7.65
Величина внеклеточного pH	7.35–7.40	6.60–7.10
Экспрессия mtNOS	100%	5% от нормы
Активность Mn-SOD	100%	10–50% от нормы
Скорость генерации H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ферментами дыхательной цепи при ингибировании антимицином	100% (клетки печени)	(20–50%) (клетки аденокарциномы линий М3, ММ3 и P07 и пролиферирующие гепатоциты)
Базальная концентрация H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> в цитоплазме клеток	10 <sup>-9</sup> М (клетки печени)	(4–8) · 10 <sup>-11</sup> М (клетки аденокарциномы линий М3, ММ3 и P07 и пролиферирующие гепатоциты)
Содержание глутатиона	22,4 ± 3,5 нмоль/мг белка (печень человека)	41,9 ± 7,2 нмоль/мг белка (карцинома печени человека)
Соотношение НАД <sup>+</sup> /НАДН	884 ± 24 (гепатоциты крысы)	324 ± 22 (клетки гепатомы С-27)
Активность супероксиддисмутазы (Cu-Zn SOD), каталазы и глутатионпероксидазы	100% (гепатоциты линии Chang)	300% (клетки карциномы печени линии HepG2)

\*При составлении таблицы использованы данные работ [1, 59, 62, 83, 123].

клетках подтверждена исследованиями, проведенными на уровне генома, протеома и на метаболическом уровне [142]. Способность опухолевых клеток накапливать глюкозу в настоящее время используется при диагностике онкологических заболеваний с помощью позитронно-эмиссионной томографии [63].

Следует отметить, что одним из фундаментальных свойств клеток является их способность поддерживать энергетический баланс («энергетический» гомеостаз). Показано, что при физиологических условиях энергия гидролиза АТФ ( $\Delta G_{\text{АТФ}}$ ) в цитоплазме или «цитозольный потенциал фосфорилирования» составляет от –53 до –60 кДж/моль [179]. Клетки с различным метаболизмом и различными значениями трансмембранного потенциала ( $V_{\text{mem}}$ ) характеризуются близкими по величине значениями  $\Delta G_{\text{АТФ}}$ . Например, для клеток сердца, печени и эритроцитов трансмембранный потенциал составляет –86, –56 и –6 мВ соответственно, тогда как величина  $\Delta G_{\text{АТФ}}$  равна –56 кДж/моль [178]. При этом основным источником АТФ в кардиомиоцитах являются митохондрии, а эритроциты способны восполнять АТФ только за счет гликолиза. Таким образом, в результате поддержания клеточного гомеостаза нарушение окислительного фосфорилирования АТФ в митохондриях опухолевых клеток компенсируется стимуляцией субстратного фосфорилирования ферментами гликолиза. Высокая пролиферативная активность, ослабление индукции апоптоза, иммортализация, лекарственная резистентность и другие свойства опухолевых клеток могут быть опосредованы изменением метаболизма, что позволяет некоторым авторам рассматривать рак как метаболическое заболевание [148]. Ключевым сигналом в изменении метаболизма клеток может служить усиление генерации АФК митохондриями, в результате которого наблюдаются изменения активности ферментов и экспрессии генов.

Между метаболизмом и редокс-состоянием клетки существует взаимосвязь, поэтому изменения клеточного метаболизма должны сопровождаться изменениями клеточного редокс-состояния [10, 11]. Изменение редокс-состояния клетки может инициировать переключение анаболизма на катаболизм, и наоборот. Процессы переноса электронов от НАДН и НАДФН к внутриклеточным глутатиону, витамину С или молекулярному кислороду следует рассматривать не только как механизм энергетического сопряжения, но и как механизм регуляции метаболизма [11]. Предполагается, что в роли одного из возможных переключателей метаболических путей в промежуточном

метаболизме может выступать аконитаза [19]. При низкой концентрации супероксида аконитаза активна и образующийся в матриксе митохондрий цитрат будет окисляться до оксалоацетата в цикле трикарбоновых кислот. Супероксидный анион-радикал в высоких концентрациях способен инактивировать аконитазу через окисление кластера  $[4\text{Fe-4S}]^{2+}$ , в результате чего цитрат будет использоваться для синтеза жирных кислот в цитоплазме. Показано также, что с участием митохондриальных АФК активируется фактор транскрипции HIF-1 (hypoxia-inducible factor) [43], среди мишеней которого находятся гены ферментов гликолиза и транспортеров глюкозы. Следует отметить, что активация HIF-1 наблюдается при снижении концентрации кислорода в тканях. Показано, что функциональная активность клеток в условиях гипоксии и гипероксии значительно изменяется в сравнении с их активностью при нормоксии. В обоих случаях активация внутриклеточных сигнальных путей происходит с участием АФК, генерируемых митохондриями [43, 58]. Однако при гипероксии отмечается старение клеток, увеличение числа погибших клеток и снижение внутриклеточной концентрации АТФ [23]. С другой стороны, в условиях гипоксии указанные выше явления не наблюдаются [133]. Таким образом, с участием одних и тех же сигнальных молекул – АФК – запускаются разные клеточные ответы.

Митохондрии являются основным источником АФК для клеток и тканей [82]. Около 3–5% от поступающего в митохондрии  $\text{O}_2$  используется для образования АФК [38]. Наиболее изученным механизмом образования АФК в митохондриях является генерация супероксидных анион-радикалов в комплексе III [139, 172]. Скорость генерации  $\text{H}_2\text{O}_2$  электрон-транспортной цепью при физиологических условиях зависит от метаболического состояния митохондрий и внутримитохондриальной концентрации  $\text{NO}$  [30, 37]. Состояние 4 с относительно низкой скоростью дыхания и отсутствием АДФ характеризуется высокой скоростью образования  $\dot{\text{O}}_2^-$  и  $\text{H}_2\text{O}_2$  (0,3–0,8 нМ  $\text{H}_2\text{O}_2$ /мин на 1 мг белка). С другой стороны, при окислительном фосфорилировании в состоянии 3, характеризующимся высокой скоростью поглощения кислорода митохондриями, скорость образования  $\dot{\text{O}}_2^-$  и  $\text{H}_2\text{O}_2$  значительно снижена (0,05–0,15 нМ  $\text{H}_2\text{O}_2$ /мин на 1 мг белка) [31].

В результате снижения содержания ферментов дыхательной цепи скорость генерации  $\text{H}_2\text{O}_2$  митохондриями раковых клеток в несколько раз ниже, чем скорость генерации  $\text{H}_2\text{O}_2$  митохондриями клеток нетрансформированных тканей. Основываясь на данных о скорости генерации  $\text{H}_2\text{O}_2$  митохондриями, содержании каталазы и глутатионпероксидазы в клетках, S. Galli с коллегами оценил стационарную концентрацию  $\text{H}_2\text{O}_2$  в цитоплазме опухолевых и нормальных клеток (табл. 1). Оказалось, что величина стационарной цитоплазматической концентрации пероксида водорода на два порядка ниже в трансформированных клетках, чем в нетрансформированных. G. Santamaria и соавт. [144] показали, что в клетках с высокой гликолитической активностью снижена генерация АФК, в результате чего клетки обладают резистентностью к апоптотическим сигналам, инициирующими митохондриальный путь апоптоза. Между тем T. Szatrowski, C. Nathan [163] обнаружили высокую скорость экзоплазматической генерации АФК рядом опухолевых клеток.

Следует также отметить, что содержание восстановленных пиридиннуклеотидов (НАД(Ф)Н) и глутатиона в опухолевых тканях в несколько раз выше, чем в нормальных [1, 78]. В клетках опухоли увеличено содержание супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионпероксидазы [105]. При этом в опухолевых клетках увеличивается активность цитозольной Cu-Zn SOD, тогда как активность митохондриальной Mn-SOD снижена [97, 129]. Повышенная экспрессия белка тиоредоксина наблюдается в клетках карциномы желудка [68], карциномы легких [153] и мезотелиомы [87]. В клетках злокачественной ротовой опухоли [194] и плевральной мезотелиомы [98] повышена экспрессия белков семейства пероксиредоксина. Таким образом, многочисленные экспериментальные данные создали предпосылки для развития новой концепции канцерогенеза, в основе которой лежат нарушения редокс-гомеостаза клеток, изменяющие внеклеточную и внутриклеточную трансдукцию сигнала.

**Редокс-гомеостаз и редокс-сигнализация опухолевых клеток.** Многие заболевания, включая онкологические, сопровождаются нарушением редокс-гомеостаза [11, 166]. С. Friesen и соавт. [59] установили, что регуляция апоптоза в клетках линий СЕМ (острая лейкемия человека) и SHEP (нейробластома человека) зависит от редокс-состояния. Резистентность многих опухоле-

вых клеток к противоопухолевым препаратам связана с высокой (по сравнению с клетками ткани в норме) внутриклеточной концентрацией глутатиона [48, 60, 75]. Показано, что при увеличении концентрации восстановленного глутатиона (GSH) в фибробластах повышается активность теломеразы, при снижении концентрации GSH активность фермента снижается [29]. Обнаружено также, что внутриклеточная концентрация GSH повышается при митозе и G<sub>2</sub>-фазе клеточного цикла в сравнении с другими фазами цикла [49]. С другой стороны, для перехода клетки из G<sub>1</sub>-фазы в S-фазу необходимо повышение внутриклеточной концентрации окислителей [119], что, вероятно, является сигналом для вступления клетки в новый митотический цикл. В модельных системах с использованием различных типов клеток показано стимулирующее действие экзогенного H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> на деление клеток [34, 35, 186]. Снижение внутриклеточной концентрации глутатиона и повышение внутриклеточной концентрации АФК является одним из способов активации апоптоза в опухолевых и нетрансформированных клетках [17, 28, 77, 120].

Показано, что изменение внутриклеточной концентрации редокс-факторов регулирует активность практически всех классов сигнальных эффекторных белков, участвующих в передаче сигнала от клеточной поверхности к ядру. Взаимодействие внеклеточных регуляторных сигналов с клеточными рецепторами приводит к росту внутриклеточной концентрации таких низкомолекулярных продуктов, как H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, O<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO и др., которые обеспечивают дальнейшую передачу сигнала внутри клетки на эффекторы и усиление сигнала путем включения ферментативных каскадов. Образовавшиеся АФК участвуют в регуляции активности ряда протеинкиназ, фосфатаз, фосфолипаз, факторов транскрипции, ионных каналов и насосов клеточных мембран.

Регуляция процессов трансдукции сигналов в клетке является многоуровневой: при действии редокс-факторов изменяется не только активность клеточных эффекторов (протеинкиназ, фосфатаз, ионных каналов и насосов и др.), но и экспрессия белков, изменяющих чувствительность клеток к действию внеклеточных регуляторных факторов. Следует отметить, что эффекторами действия редокс-факторов являются многие типы участников передачи митогенных и апоптогенных сигналов к клетке. Таким образом, образование окислителей и восстановителей в организме является неотъемлемым фактором нормального функционирования клеток, отсутствие которого, так же как и чрезмерное образование этих соединений в клетке, может приводить к гибели клеток.

Под влиянием результатов многочисленных работ, посвященных проблеме редокс-регуляции, сегодня происходит не только переоценка роли свободнорадикальных процессов в функционировании организмов, но изменяется и представление об основных понятиях свободнорадикальной медицины, включая такое понятие, как «окислительный стресс». В соответствии с современным определением окислительный стресс – это дисбаланс между оксидантами и антиоксидантами в пользу оксидантов, который ведет к нарушению редокс-сигнализации и контроля и/или к повреждению макромолекул [151]. Концепция «редокс-сигнализации» объединяет клеточные пути трансдукции сигнала, в которых интегративным элементом выступают электрон-транспортные реакции с участием свободных радикалов и окислителей нерадикальной природы [57, 84, 85]. Для характеристики группы соединений, включающих АФК и антиоксиданты, нами предлагается использовать термин «редокс-активные молекулы» [4, 116]. Эти молекулы обладают рядом свойств, не характерных для большинства функционирующих в живых системах биологически активных соединений, что позволяет рассматривать их как новый тип регуляторных молекул, для описания механизмов действия которых требуются новые подходы [4, 116]. Эти соединения являются новым типом вторичных мессенджеров (редокс-мессенджеры) – мессенджеров, переносящих электроны [14].

В настоящее время факт участия различных типов редокс-активных молекул в регуляции трансдукции сигнала в клетке не вызывает сомнения. Однако до сих пор не выяснен вопрос о том, как одни и те же низкомолекулярные редокс-активные молекулы осуществляют регуляцию многочисленных клеточных функций, включая пролиферацию и апоптоз. Существующие трудности во многом обусловлены отсутствием экспериментальных и теоретических разработок, позволяющих более детально описать процессы редокс-регуляции, протекающие в клетке с участием АФК.

Для количественного описания окислительно-восстановительных процессов, которые имеют место в живых системах, нами введены и экспериментально обоснованы новые физико-химические параметры – «эффективный редокс-потенциал» и «редокс-буферная емкость», учитывающие вклад основных участников окислительно-восстановительных процессов в клетках [10]. Эффективный редокс-потенциал ( $E^{\text{эфф}}$ ) характеризует «суммарную» способность многокомпонентной внутриклеточной среды в стандартных условиях отдавать электроны [8, 115]. Физико-химический параметр «редокс-буферная емкость» ( $r$ ) используется для количественной характеристики способности клеток противодействовать изменению величины  $E^{\text{эфф}}$  внутриклеточной среды при изменении концентраций редокс-активных молекул [9, 118]. Величина редокс-буферной емкости клеток зависит от типа окислителей или восстановителей (табл. 2). Показано, что новые физико-химические параметры могут быть использованы не только для описания окислительно-восстановительных процессов, но и для характеристики функционального состояния клеток [6, 8, 143]. Величины указанных параметров редокс-состояния являются также индикаторами окислительных нарушений в клетках при разных патологиях [6, 143]. Теоретически и экспериментально доказана взаимосвязь параметров гомеостаза, характеризующих кислотно-основное состояние и редокс-состояние клеток [5]. Обнаружено, что величина параметров редокс-состояния в клетках зависит как от внеклеточной, так и внутриклеточной концентрации ионов водорода [5]. Показано, что указанные параметры могут быть использованы также при описании механизмов редокс-сигнализации в клетках [4, 116].

Т а б л и ц а 2. Эффективный редокс-потенциал ( $E^{\text{эфф}}$ ) и редокс-буферная емкость ( $r$ ) в нормальных и опухолевых клетках и тканях\*

Тип объекта	$E^{\text{эфф}}$ , мВ (рН 7.2)	$r$ по $H_2O_2$ , мМ/В (рН 7.2)	$r$ по $HO$ , мМ/В (рН 7.2)
Печень человека	-210	27	5,9
Карцинома печени человека	-230	48	11
Клетки линии Chang (гепатоциты человека)	-208	26	5,6
Клетки линии Нер G2 (клетки гепатомы человека)	-220	36	7,7
Фибробласты кожи человека	-135	11,4	2,2
Клетки фибросаркомы человека	-180	16,6	3,4

\*При расчетах использованы данные работ [78, 105, 150, 196].

Величина  $E^{\text{эфф}}$  изменяется на протяжении жизненного цикла (восстановительная способность клетки уменьшается при переходе от пролиферации к дифференцировке и при переходе от дифференцировки к программируемой гибели). Различным функциональным состояниям клетки соответствует свой диапазон значений эффективного редокс-потенциала [8, 10]. В фибробластах человека пролиферации соответствует диапазон значений  $E^{\text{эфф}}$  от -140 до -120 мВ, дифференцировке – от -120 до -80 мВ, апоптозу – от -80 до + 75 мВ, некрозу – от + 75 мВ и выше (рис. 1).

Сдвиг внутриклеточного  $E^{\text{эфф}}$  к положительным значениям сопровождается переключением клеточной активности от пролиферации к дифференцировке, от дифференцировки к апоптозу, от апоптоза к некрозу. Поддержание определенного редокс-гомеостаза на разных этапах жизненного цикла также важно для клетки, как и поддержание ионного гомеостаза. Показано, что для инициации процессов дифференцировки в клетках необходимо повышение базальной концентрации цитозольного кальция на 100–200 нМ [155], тогда как повышение базальной концентрации цитозольного кальция на 300–400 нМ вызывает гибель клеток [171].

Следует обратить внимание на тот факт, что если рост концентрации АФК инициирует переход клеток от пролиферации к дифференцировке, то увеличение концентрации восстановителей в клетке может индуцировать обратный переход – от дифференцировки к пролиферации. Вероятно, чрезмерное накопление восстановителей в тканях ответственно за возникновение и развитие специфических свойств опухолевых клеток.

В опухолевых тканях наблюдается снижение величины  $E^{\text{эфф}}$  и повышение величины  $r$  в сравнении с аналогичными показателями в нормальных тканях. Определенные нами количественные показатели редокс-состояния для печени в норме, карциномы печени, фибробластов и кле-

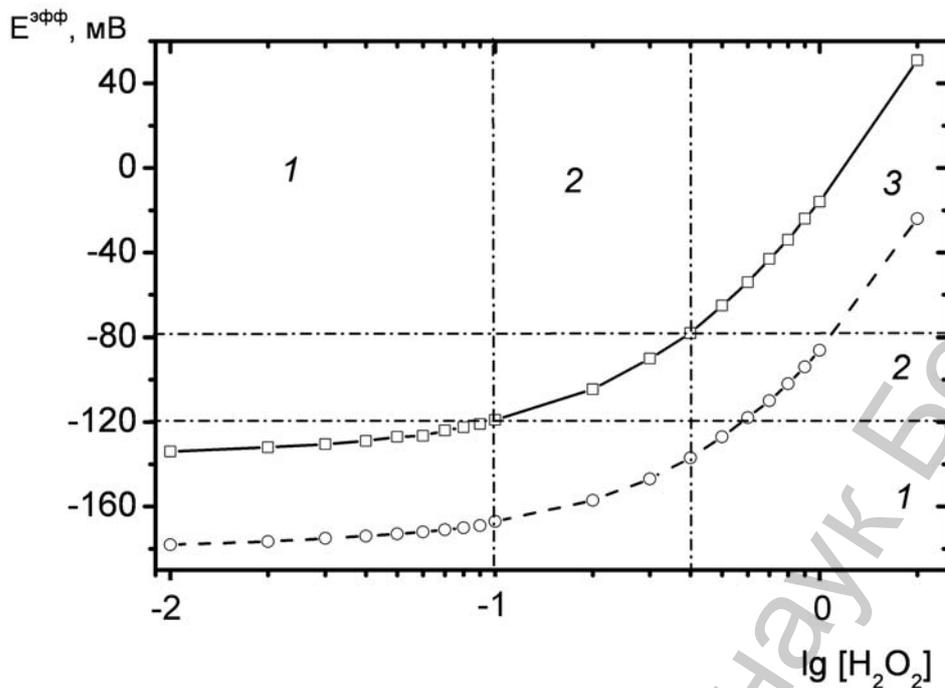


Рис. 1. Зависимость эффективного редокс-потенциала фибробластов кожи человека (непрерывная линия) и эффективного редокс-потенциала клеток фибросаркомы (прерывистая линия) от концентрации  $H_2O_2$  (мМ): 1 – область пролиферации; 2 – область дифференцировки; 3 – область апоптоза

ток фибросаркомы представлены в табл. 2. В результате изменения величины параметров редокс-гомеостаза функциональный ответ трансформированных клеток на внеклеточные сигналы отличается от реакции нормальных клеток (см. рис. 1). Внеклеточный сигнал, индуцирующий достаточное для активации апоптоза повышение внутриклеточной концентрации окислителей в нормальных клетках, в трансформированных клетках будет индуцировать повышение концентрации окислителей, характерное лишь для пролиферации. То есть сигнал, индуцирующий апоптоз в нормальных тканях, в трансформированных тканях может усиливать пролиферацию клеток. Важно подчеркнуть, что при действии редокс-сигналов на клетки значение имеют не столько вариации состава реагентов, сколько их физико-химические свойства и физико-химические свойства среды. Один и тот же результат может быть достигнут при добавлении различных компонентов, которые, однако, вызывают одинаковые изменения эффективного редокс-потенциала в клетках [4, 8].

**Противоопухолевая редокс-направленная терапия.** В методах противоопухолевой терапии уже на протяжении многих лет применяются подходы, основанные на редокс-регуляции активности клеток, а точнее, на использовании предельного случая такой регуляции – гибели клеток (некроз, апоптоз, аутофагия и др.), индуцированной повышением внутриклеточной концентрации АФК.

Стимуляция генерации АФК используется в методах фототерапии и лучевой терапии онкологических заболеваний. В химиотерапии онкологических заболеваний широко используются препараты, усиливающие генерацию АФК клетками. В 1963 г. К. Verenis [27] обнаружил, что противоопухолевый агент прокарбазин окисляется в растворе с образованием  $H_2O_2$ . В последние десятилетия показано, что генерация АФК является важным этапом в процессе индуцирования апоптоза раковых клеток такими широко используемыми химиотерапевтическими агентами, как цисплатин, блеомицин и этопозид [103, 112, 124]. Генерация АФК в опухолевых клетках усиливается также при действии моноклонального антитела ритуксимаба [25], протеасомного ингибитора бортезомиба [135], а также противоопухолевых антибиотиков – ингибиторов гистондиацилаз SANA (suberoylanilide hydroxamic acid) [175] и адафостина [149].

Участие АФК в механизмах действия многих противоопухолевых препаратов позволяет выделить отдельную область противоопухолевой терапии – редокс-направленную терапию рака

[191]. Новый класс перспективных противоопухолевых агентов, уже продемонстрировавших эффективность в доклинических исследованиях, включает артемизинин, аскорбиновую кислоту, мотексафин гадолиний, ресвератрол, элескломол, эпигаллокатехин-3-галлат и др. В табл. 3 показано, что активность уже использующихся в противоопухолевой терапии препаратов зависит и от их способности генерировать АФК.

Следует также отметить способность ряда витаминов увеличивать генерацию АФК, индуцируемую различными противоопухолевыми агентами. В результате повышения генерации АФК гормон кальцитриол, гидроксилированная форма витамина D, увеличивает чувствительность опухолевых клеток молочной железы к экзогенным окислителям [190] и усиливает их гибель при действии фактора некроза опухоли (TNF $\alpha$ ) [189]. АФК выполняют ключевую роль в механизме индуцирования апоптоза раковых клеток синтетическим аналогом витамина E – сукцинатом  $\alpha$ -токоферола [89]. Комбинация витамина B<sub>12b</sub> и витамина C индуцирует повышение образования АФК и гибель клеток карциномы гортани линии HEP-2 [15]. Аналогичный эффект для клеток карциномы гортани линии HEP-2 обнаружен при одновременном использовании витамина B<sub>12b</sub> и глутатиона [12].

Т а б л и ц а 3. Примеры химиотерапевтических агентов, регулирующих клеточные редокс-процессы

Тип агента	Предполагаемые механизмы действия/мишени	Примечание/показания	Источник
<i>Агенты с прооксидантной активностью (активаторы продукции АФК)</i>			
Адафостин (тирфостин AG 957)	Индукцирует образование АФК ( $\dot{O}_2^-$ и $H_2O_2$ ) в результате ингибирования митохондриального комплекса III	Тестируется в отношении хронического лимфолейкоза (лимфоцитарного лейкоза)	[106, 149]
Адриамицин (доксорубин)	Индукцирует образование АФК ( $\dot{O}_2^-$ и $H_2O_2$ ) с участием ферментов дыхательной цепи митохондрий	Применяют при лечении саркомы мягких тканей, рака щитовидной железы, рака поджелудочной железы, хронического лимфолейкоза и др.; обладает высокой кардиотоксичностью	[104]
Артемизинин	Образование углеродцентрированных радикалов и АФК с участием металлов переменной валентности	Применяют при лечении малярии. Тестируется в отношении меланомы и рака молочной железы	[191]
Блеомицин	В комплексе с металлами переменной валентности индуцирует образование АФК (НО $\cdot$ ), вызывающих свободнорадикальное повреждение липидов и ДНК	Применяют при лечении рака пищевода, рака легкого, рака шейки матки, рака щитовидной железы, рака почки, злокачественных опухолей мозга и шеи, саркомы мягких тканей и др.	[70]
Даунорубин	Индукцирует образование АФК ( $\dot{O}_2^-$ и $H_2O_2$ ) с участием ферментов дыхательной цепи митохондрий	Применяют при лечении острого лимфобластного лейкоза, опухоли Юинга, опухоли Вильмса, лимфосаркомы, саркомы мягких тканей, нейробластомы и др.	[113]
Дихлорацетат	Ингибирует киназу митохондриальной пирватдегидрогеназы и усиливает образование АФК с участием ферментов митохондрий	Тестируется в отношении глиомы и глиобластомы	[191]
$\beta$ -Лапахон (ARQ 501)	Индукцирует образование АФК ( $\dot{O}_2^-$ и $H_2O_2$ ) с участием НАД(Ф)Н : хинон оксидоредуктазы (NQO1, E. C. 1.6.99.2)	Тестируется в отношении лейомиосаркомы и рака поджелудочной железы	[131]
Куркумин	Усиливает образование АФК в клетках	Тестируется в отношении лимфомы, миеломы, рака кожи, рака шейки матки, рака поджелудочной железы	[168]
Менадион (2-метил-1,4-нафтохинон)	Индукцирует образование АФК ( $\dot{O}_2^-$ и $H_2O_2$ ) с участием оксидоредуктазы	Тестируется в отношении лейкемии и различных солидных опухолей	[45, 191]
Мотексафин гадолиний	Индукцирует образование АФК ( $\dot{O}_2^-$ и $H_2O_2$ ) с участием оксидоредуктазы; ингибирует тиоредоксинредуктазу	Тестируется в отношении рака почек, рака поджелудочной железы, рака легкого, лимфосаркомы и глиобластомы	[180]

Тип агента	Предполагаемые механизмы действия/мишени	Примечание/показания	Источник
Паклитоксел	Индукцирует образование АФК ( $\dot{O}_2^-$ и $H_2O_2$ ) с участием ферментов дыхательной цепи митохондрий	Применяют при лечении рака яичников, немелкоклеточного рака легких, рака молочной железы	[177]
Прокарбазин	В результате автоокисления инициирует образование перекисных и гидроокисных радикалов в клетке	Применяют при лечении злокачественных заболеваний лимфатических тканей	[141]
Ресвератрол (3,5,4-тригидростилбен)	Индукцирует образование АФК ( $\dot{O}_2^-$ и $H_2O_2$ ) с участием ферментов дыхательной цепи митохондрий	Тестируется в отношении миеломы, фолликулярного рака и колоректального рака	[86, 184]
Трисенокс ( $As_2O_3$ )	Индукцирует образование АФК ( $\dot{O}_2^-$ и $H_2O_2$ ) в результате ингибирования дыхательной цепи митохондрий; ингибирует тиоредоксин-редуктазу	Применяют при лечении рецидивов острой промиелоцитарной лейкемии; тестируется в отношении меланомы, множественной миеломы и опухолей мозга	[110, 136]
$\alpha$ -Токоферол сукцинат	Индукцирует образование АФК ( $\dot{O}_2^-$ и $H_2O_2$ ) в результате ингибирования сукцинатдегидрогеназы (комплекса II)	Тестируется в отношении меланомы, мезотелиомы, рака простаты, рака молочной железы, колоректального рака	[55, 127]
Фотофрин II (эфир дигематопорфина)	Приводит к образованию синглетного кислорода в фотохимических реакциях	В США разрешен для лечения рака мочевого пузыря, легкого и других локализаций	[146]
Фотодитазин (N-диметилглюкаминавая соль хлорина Е6)	Приводит к образованию синглетного кислорода в фотохимических реакциях	В России разрешен для лечения рака легкого и рака кожи	[176]
Цисплатин (cis-Pt)	Усиливает образование АФК в клетках; усиливает экспрессию НАДФН-оксидазы; связывается с митохондриальной и ядерной ДНК с образованием внутри- и межспиральных сшивок	Применяют при лечении рака кожи, злокачественных опухолей головы и шеи, рака пищевода, остеогенной и мягкотканной саркомы, саркомы Юинга, лимфомы, мезотелиомы, меланомы, нейробластомы и др.	[32, 94, 111]
Эпигаллокатехин-3-галлат (EGCG)	Усиливает образование АФК в клетках	Тестируется в отношении лимфомы, миеломы, меланомы, рака поджелудочной железы, рака молочной железы	[125,126]
Этопозид	Метаболически активизируется окислением и деметилированием с образованием хиноновых производных	Применяют при лечении рака яичников, неходжкинских лимфом, саркомы Юинга, саркомы Капоши, нейробластомы, мезотелиом и др.	[100]
<i>Модуляторы антиоксидантной активности клеток</i>			
$\beta$ -фенилэтил изотиоцианат (PEITC)	Ингибирует глутатионпероксидазу; конъюгирует с восстановленным глутатионом	Тестируется в отношении лимфопролиферативных заболеваний, рака молочной железы, рака легкого и рака простаты	[45, 170]
Бутионин-сульфоксмин	Ингибирует $\gamma$ -глутамилцистеинсинтазу; снижает внутриклеточную концентрацию восстановленного глутатиона	Тестируется в отношении нейробластомы и меланомы	[170]
Имексон	Конъюгирует с восстановленным глутатионом и SH-группами белков	Тестируется в отношении поджелудочной аденокарциномы, рака молочной железы, рака легкого и рака простаты	[191]
2-Метоксиэстрадиол	Ингибирует Cu-Zn SOD и Mn-SOD; увеличивает образование АФК ( $\dot{O}_2^-$ и $H_2O_2$ ) митохондриями; ингибирует полимеризацию тубулина	Тестируется в отношении рака простаты, рака яичников, опухолей мозга	[54, 79, 170]
Холин тетраиомолибдата (ATN-224)	Ингибирует Cu-Zn SOD	Тестируется в отношении меланомы, рака простаты, рака молочной железы	[191]

Повышение концентрации АФК в клетках вызывается множеством внеклеточных сигналов, среди которых важное место занимают факторы роста и цитокины. Показано, что фактор некроза опухоли (TNF- $\alpha$ ) усиливает генерацию пероксида водорода митохондриями и НАДФН-оксидазой [64, 109]. Взаимодействие тромбоцитарного (PDGF) и эпидермального (EGF) факторов роста с рецепторами плазматической мембраны вызывает кратковременное повышение внутриклеточной концентрации  $H_2O_2$  [21, 159]. Генерация АФК в нефагоцитирующих клетках наблюдается при стимуляции интерлейкином-1 $\beta$  [169], интерлейкином 6 [160], интерлейкином 3 [145], фактором роста нервов (NGF) [162], трансформирующим фактором роста (TGF- $\beta$ 1) [167] и рядом других лигандов.

Усиление процессов генерации АФК в клетках наблюдается также при действии физических факторов. Показано, что лазерное излучение (780 нм, 0,45–0,95 Дж/см<sup>2</sup>) усиливает образование АФК в клетках [69]. Согласно гипотезе российского биофизика Т. Й. Кару [90, 91], усиление генерации АФК является одним из первичных молекулярно-клеточных механизмов действия низкоинтенсивной лазерной терапии. Повышенный уровень АФК в клетках наблюдается также после их облучения электромагнитным излучением видимого диапазона (380–500 нм, 5–60 Дж/см<sup>2</sup>) [130]. Между тем функциональные ответы клеток, в реализацию которых вовлечены окислители, зависят от параметров воздействия и типа клеток. Показано, например, что одиночный электрический импульс (500 В/м в течение 60 с) стимулирует рост клеток опухоли предстательной железы в результате повышения уровней внутриклеточных АФК и несвязанных ионов  $Ca^{2+}$  [187]. С другой стороны, экспозиция раковых клеток слизистой оболочки рта в течение 24 ч к постоянному электрическому полю напряженностью 4 В/м индуцирует апоптоз в результате длительного усиления генерации АФК [188].

Согласно приведенным выше литературным данным, ключевым событием, регулирующим ответ клетки на действие многих физических и химических факторов, является изменение концентрации внутриклеточных АФК. Однако в рамках современных представлений можно заключить, что увеличение внутриклеточной концентрации окислителей не обязательно приведет к активации окислительного стресса и гибели клеток. Показано, что АФК участвуют в регуляции физиологических процессов практически у всех клеток организма, что является их главным отличием от большинства сигнальных молекул, действующих лишь на клетки, обладающие соответствующими рецепторами.

Ввиду сложности и многообразия процессов с участием редокс-активных молекул возникла парадоксальная ситуация. Повышение внутриклеточной концентрации АФК рассматривается и как индуктор канцерогенеза [99], и как способ индуцирования гибели опухолевых клеток [56]. Окислительный стресс индуцируется многими канцерогенами и индукторами апоптоза [99]. С одной стороны, синтетические и природные антиоксиданты рекомендуются в качестве протекторов канцерогенеза, с другой – окислительный стресс является необходимым этапом действия ряда противоопухолевых агентов и может усиливаться некоторыми антиоксидантами. Наряду с этим сами противоопухолевые агенты (адриамицин, дауномицин, 1,4-бензохинон и др.) могут также инициировать канцерогенез [99, 100].

Кажущееся противоречие о ключевой роли АФК в канцерогенезе и методах противоопухолевой терапии снимается в рамках концепции редокс-сигнализации, согласно которой эффект регуляции функциональной активности клеток определяется не только типом и величиной концентрации АФК, но типом и величиной концентрации клеточных антиоксидантов, а также местом образования АФК. Так, образование АФК вблизи ядра может вызывать повреждения ДНК и инициировать канцерогенез (см. рис. 2). Генерация АФК вблизи ядра, вероятно, опосредована действием канцерогенов. Известно, что образование АФК происходит в результате метаболизма многих канцерогенов, протекающего с участием цитохрома P450, который располагается на мембране локализованного вблизи ядра гладкого эндоплазматического ретикула. С другой стороны, повышение уровня АФК в клетках вызовет ответ систем регуляции редокс-гомеостаза, направленный на его снижение путем увеличения концентрации антиоксидантов («редокс-адаптация»). Изменение метаболизма клетки, связанное с переключением окислительного на субстратное фосфорилирование, можно рассматривать как один из способов повышения концентрации основных клеточных антиоксидантов. Редокс-адаптация клеток усиливает резистентность

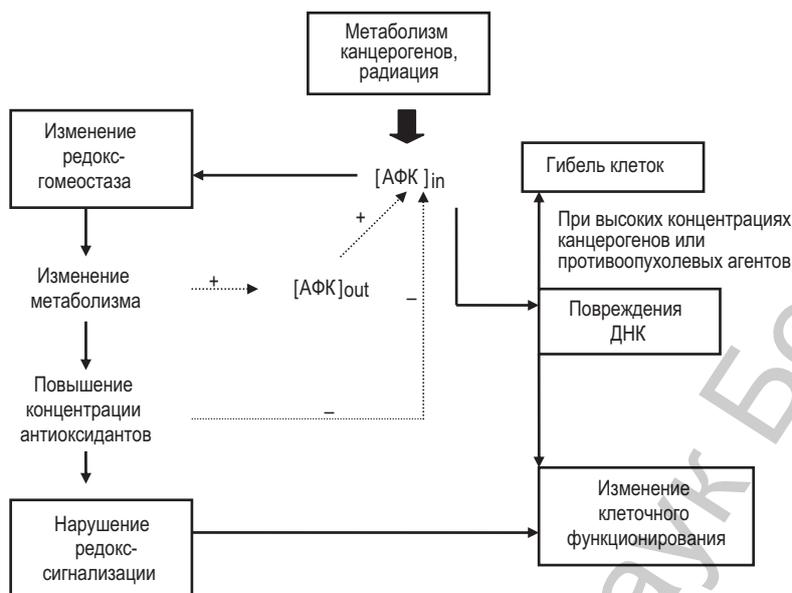


Рис. 2. Схема АФК-индуцированного канцерогенеза

клеток к ионизирующей радиации и действию ряда лекарственных соединений. В результате повышения концентрации антиоксидантов нарушается редокс-сигнализация, что способствует изменению клеточного функционирования и возникновению рака.

Следует отметить, что при повышении концентрации НАДФН может усиливаться генерация экзогенных АФК мембранными НАДФН-оксидазами. Повышенная генерация АФК опухолевыми клетками отмечается во многих исследованиях [88, 101, 198], что в ряде случаев может служить аутокринным сигналом, поддерживающим измененный редокс-гомеостаз опухолевых клеток. Внеклеточный  $H_2O_2$  может вызывать гибель нормальных клеток и поддерживать пролиферативную активность трансформированных (см. выше). Показано, что сверхэкспрессия гена оксидазы Mox 1 ускоряет пролиферацию фибробластов линии NIH3T3 и вызывает формирование опухолей у мышей [158].

Проявление цитотоксического действия пероксида водорода, противоопухолевого агента и индуктора апоптоза зависит от содержания антиоксидантов в клетке. В трансформированных клетках крови (промиелоцитарная лейкемия) линии HL-60 цитотоксический эффект  $H_2O_2$  проявляется при концентрации 32 мкМ, а в клетках глиомы линии KG1C, в которых внутриклеточная концентрация глутатиона в 5 раз выше, чем в HL-60, цитотоксическая доза  $H_2O_2$  в 100 раз выше [80]. В свою очередь одновременная активация редокс-сигнальных систем, использующих супероксидный анион-радикал (НАДФН-оксидаза) и монооксид азота (NO-синтаза), может способствовать образованию высокотоксичных окислителей пероксинитрит-аниона ( $ONOO^-$ ), диоксида азота ( $NO_2$ ) и гидроксильного радикала ( $HO\cdot$ ), ведущих к повреждению клеточных структур.

Предполагается, что различные клеточные состояния зависят от соотношения концентраций  $NO$  и  $O_2^-$  [174]. В состоянии покоя наблюдается высокое соотношение  $NO/O_2^-$  ( $> 10$ ), а преобладающим интермедиатом является  $NO$ . Активация клеток будет наблюдаться при соотношении  $NO/O_2^-$  около 2–3, когда преобладающим интермедиатом будет  $NO^+$ . Максимальной активации соответствует соотношение  $NO/O_2^-$ , равное 1, при котором преимущественно образуется  $ONOO^-$ , а при соотношении  $NO/O_2^-$  менее 0,5 будет происходить повреждение клеточных мишеней в результате образования  $NO_2$  и  $HO\cdot$ . Таким образом, при определенных условиях внеклеточная генерация АФК формирует паракринный сигнал, регулирующий трансформацию здоровых клеток.

Наряду с этим показано, что повышение генерации АФК в результате активации НАДФН-оксидазы при увеличении уровня васкулярного фактора роста эндотелия (VEGF) стимулирует

пролиферацию опухолевых клеток и ангиогенез [192]. Поэтому в онкологии наряду с препаратами, усиливающими генерацию АФК в клетках, используются также препараты, снижающие образование АФК клетками. Так, например, широко используемые в ангиогенной терапии лекарственные препараты авастин (бевацизумаб) и луцентис (ранибизумаб) – антагонисты VEGF – снижают образование АФК в клетках, которое наблюдается при стимуляции VEGF-рецепторов [121]. Таким образом, трансформация ряда свойств клеток при канцерогенезе, вероятно, протекает с участием экзоплазматически генерируемых АФК.

Для индукции апоптоза в клетках необходимо инициировать повышение концентрации АФК в матриксе митохондрий. Образующийся при этом  $H_2O_2$  вызовет окисление сульфгидрильных групп адениннуклеотидного транспортера ANT (adenine nucleotide translocase) внутренней мембраны митохондрий, что приведет к образованию пор высокой проводимости в результате формирования комплекса между циклофилином D, ANT и потенциал-зависимым анионным каналом VDAC внешней мембраны митохондрий [71]. Открытие пор высокой проводимости сопровождается деполяризацией внутренней мембраны митохондрий и приводит к высвобождению цитохрома c и апоптоз-индуцирующего фактора AIF, что является начальной стадией апоптоза [173]. Таким образом, согласно описанному выше механизму АФК-опосредованной активации апоптоза, образование АФК должно происходить вблизи специфических редокс-сенсоров, в качестве которых выступают сульфгидрильные группы ANT.

При поддержании постоянного градиента концентраций пероксида водорода на плазматической мембране [7] и митохондриальной мембране концентрация  $H_2O_2$  в матриксе митохондрий на несколько порядков ниже его внеклеточной концентрации. Поэтому для активации апоптоза необходим  $H_2O_2$  в высоких (по сравнению с эндогенными) концентрациях. Использование ряда противоопухолевых препаратов, вероятно, позволяет повысить концентрацию АФК вблизи митохондрий и ядра, что и определяет их противоопухолевую активность.

При этом следует отметить, что биологическая (противоопухолевая) активность ряда агентов зависит от их редокс-свойств. Для описания способности веществ отдавать электроны используются различные физико-химические параметры, такие как окислительный потенциал [195], редокс-потенциал [154], константа скорости реакции второго порядка для тушения образования синглетного кислорода фотосенсибилизаторами  $k_{\Delta}$  [26], энергия высшей занятой молекулярной орбитали  $E_{ВЗМО}$  [199] и др. Обнаружена линейная корреляция между способностью флавонов ингибировать рост клеток карциномы ( $IC_{50}$ ) и значением их  $k_{\Delta}$ : более высокое значение  $k_{\Delta}$  (более отрицательное значение редокс-потенциала) соответствует агенту с более высокой токсической активностью [26]. С другой стороны, биологическая активность химического агента зависит также от редокс-свойств клеток и тканей. Показано, что величина изменения внутриклеточной концентрации ионов  $Ca^{2+}$  ( $\Delta[Ca^{2+}]_{цит}$ ), индуцированная увеличением концентрации пероксида водорода, зависит от величины редокс-буферной емкости клеток [116]. В клетках с более высокой редокс-буферной емкостью величина  $\Delta[Ca^{2+}]_{цит}$  ниже, чем в клетках с меньшей по величине редокс-буферной емкостью. Показано, что резистентность опухолевых клеток к противоопухолевым агентам зависит от общей антиоксидантной емкости клеток [140]. Эпигаллокатехин-3-галлат в высоких концентрациях индуцирует генерацию АФК в опухолевых клетках, но ингибирует образование АФК в нормальных эпителиальных клетках [193]. Таким образом, современные подходы в противоопухолевой терапии должны учитывать редокс-свойства агента, редокс-свойства биосистемы и локализацию (компарментализацию) внутриклеточных редокс-регуляторных систем.

**Редокс-нанобиотехнологии: новые возможности и направления поиска в противоопухолевой терапии.** В связи с обнаруженными отличиями в величинах параметров редокс-состояния и метаболизма кислорода опухолевых клеток в сравнении с нормальными были инициированы поиск и разработка новых методов противоопухолевой терапии, основной задачей которых являлась регуляция окислительных процессов в опухолевых клетках. В последние годы наряду с традиционно используемыми фототерапией и радиотерапией опухолей внимание исследователей привлекают также методы, направленные на индуцирование окислительного стресса в опухолевых клетках с помощью различных химиопрепаратов. В рамках современных представлений

регуляция окислительных процессов может осуществляться не только редокс-активными молекулами, но и регуляторами активности АФК-генерирующих и антиоксидантных ферментов, что значительно увеличивает разнообразие подходов к решению поставленной задачи.

Современные представления о клеточных редокс-процессах инициируют поиск более эффективных методов индуцирования гибели опухолевых клеток, в основе которых должен лежать не просто запуск окислительного стресса, а реализация «контролируемого окислительного стресса». Некоторые подходы этой новой противоопухолевой стратегии уже начинают разрабатываться в ряде стран, включая США, Японию, Германию и Бельгию.

Задачей технологий контролируемого окислительного стресса в отношении многоклеточного организма является активация окислительного стресса в определенных типах клеток (нужны системы доставки и активации). При этом следует учитывать, что окислительный стресс можно инициировать в результате изменения редокс-сигнализации, когда в определенном месте клетки изменяется концентрация АФК или антиоксидантов. Технологии управления процессами редокс-сигнализации представляет собой новую группу биотехнологий, которую можно назвать редокс-нанобиотехнологиями.

Если одной из задач, требующей решения в рамках традиционных методов противоопухолевой терапии, является достижение селективности действия противоопухолевых агентов на уровне клеток, то задачей современных методов является достижение селективности действия на уровне клеточных органелл. Несмотря на всю сложность такой задачи, некоторые положительные результаты уже получены.

Рядом авторов в качестве нового инструмента в противоопухолевой терапии предлагается использовать так называемые редокс-катализаторы, повышающие скорость окислительных повреждений опухолевых клеток [61, 65]. Редокс-катализаторы – это синтетические соединения, содержащие атом селена или теллура и органический компонент. Такие соединения проявляют каталитическую активность, сходную с активностью глутатионпероксидазы, но в отличие от нее не обладают субстратной специфичностью и способны катализировать окисление различных тиолсодержащих лигандов [65]. В отличие от традиционных противоопухолевых агентов, которые являются постоянно активными, такие соединения способны вызывать повреждение клеток только в конкретных редокс-условиях.

Следует отметить, что способность некоторых соединений выступать в качестве доноров или акцепторов электронов зависит также от специфических редокс-условий и определяет их потенциальную возможность использования в редокс-нанобиотехнологиях. Одним из примеров таких соединений может служить аскорбиновая кислота, интерес к возможности использования которой в терапии онкологических заболеваний значительно вырос в последние годы.

Первые исследования противоопухолевых свойств аскорбиновой кислоты были выполнены E. Cameron и L. Pauling в 1970-х годах [39–41]. Было показано, что введение 10 г аскорбиновой кислоты снижает смертность пациентов на поздней стадии рака. В исследованиях, проведенных позже С. Moertel и соавт. [50, 122], не наблюдалось улучшения состояния здоровья у онкологических больных, принимавших по 10 г аскорбиновой кислоты, что поставило под сомнения возможность ее использования в качестве терапевтического агента в противоопухолевой терапии. Противоречивость результатов исследований противоопухолевых свойств аскорбиновой кислоты *in vivo* удалось объяснить только в конце XX в. Различия в результатах указанных выше исследований объясняются использованием разных методов введения аскорбиновой кислоты в организм пациента. В исследованиях, проведенных С. Moertel с коллегами, аскорбиновую кислоту вводили только *per os*, а в исследованиях E. Cameron и L. Pauling использовали также внутривенное введение аскорбиновой кислоты в организм человека. Положительные эффекты наблюдались только при ее внутривенном введении. Показано, что внутривенное введение высоких доз антиоксиданта позволяет увеличить концентрацию аскорбиновой кислоты в крови в 70 раз, тогда как употребление высоких доз аскорбиновой кислоты *per os* увеличивает концентрацию антиоксиданта в крови только в несколько раз [132].

Согласно результатам исследований, проведенных *in vitro*, аскорбиновая кислота в концентрациях 1–10 мМ уменьшает пролиферативную активность и увеличивает гибель опухолевых

клеток предстательной железы в культуре [114]. Показано также, что аскорбиновая кислота индуцирует гибель клеток гепатомы [197], опухолевых клеток желудка [161], клеток острой миелоидной лейкемии [134], клеток промиелоцитарной линии U937 [147] и других опухолевых клеток. Недавно американские ученые в экспериментах *in vitro* с использованием 43 линий опухолевых клеток и 5 линий нормальных клеточных типов показали, что аскорбиновая кислота при концентрациях свыше 4 мМ индуцирует гибель только опухолевых клеток [46, 47]. В экспериментах *in vivo* на крысах также показано, что аскорбиновая кислота в высоких дозах подавляет рост и метастазирование при гормонально-резистентном раке предстательной железы [137]. Однако механизм избирательного цитотоксического действия аскорбиновой кислоты в отношении опухолевых клеток до сих пор не обоснован.

Исследования, проведенные *in vitro*, позволяют предположить, что цитотоксичность аскорбиновой кислоты в высоких концентрациях опосредована образованием пероксида водорода с участием металлов переменной валентности [33]. Тем не менее возможность осуществления такого механизма *in vivo* считается маловероятной [157]. Нами было показано, что цитотоксичность аскорбиновой кислоты может быть связана с регуляцией кальциевой сигнализации в опухолевых клетках [117]. Обнаружено, что при действии аскорбиновой кислоты в результате увеличения генерации активных форм кислорода электрон-транспортным комплексом III индуцируется высвобождение ионов кальция из митохондрий опухолевых клеток [2], что, вероятно, активирует апоптоз. Данный механизм позволяет объяснить также результаты экспериментальных исследований по изучению влияния аскорбиновой кислоты на эффективность действия противоопухолевых препаратов *in vitro* и *in vivo*. Показано, что в присутствии аскорбиновой кислоты противоопухолевая активность одних препаратов (блеомецин [138], циклофосфамид [164], трисеннокс [22, 66], доксорубицин и паклитоксел [102]) повышается, в то время других (метатрексат [22], бортезомиб [200]) снижается. Вероятно, аскорбиновая кислота усиливает действие препаратов, метаболизм которых протекает с участием электрон-транспортных комплексов митохондриальной и микросомальной цепей (например, доксорубицин и паклитоксел).

Следует отметить, что уже имеющиеся способы количественного описания позволяют определить концентрацию и состав вводимых редокс-активных соединений, оптимальную для активации клеточного отклика в данных редокс-условиях. Такие теоретические подходы могут быть использованы не только для создания новых нанобиотехнологий, но и для улучшения уже используемых методов противоопухолевой терапии. Подобно составлению электрических цепей (батарей) можно составлять цепи из редокс-активных элементов, что позволит значительно усиливать противоопухолевое действие данных соединений.

Показано, что ретиноевая и аскорбиновая кислоты проявляют синергизм при ингибировании роста раковых клеток молочной железы [96]. Т. Nakazato и соавт. [125] показали, что противоопухолевый эффект эпигаллокатехин-3-галлата усиливается трисенноксом. Синергизм действия в отношении опухолевых клеток наблюдается также для аскорбиновой кислоты и менадиона [182]. Следует подчеркнуть, что при совместном использовании менадиона и аскорбиновой кислоты для индукции апоптоза требуются концентрации агентов в 50 раз меньшие, чем при их раздельном использовании [128]. Предварительная обработка менадионом и аскорбиновой кислотой в экспериментах *in vitro* и *in vivo* усиливает действие гемцитабина (Гемзар) в отношении уротелиальных опухолей человека [92]. Аналогичные результаты получены и для других противоопухолевых препаратов [53, 164]. Следует отметить, что эффект радиотерапии также усиливается менадионом и аскорбиновой кислотой [165]. В рамках описанного выше механизма данный синергизм объясняется усилением образования АФК с участием хинонов (менадиона) и оксидоредуктаз митохондрий при действии аскорбиновой кислоты. Данная гипотеза подтверждается экспериментальными наблюдениями, согласно которым цитотоксический эффект аскорбиновой кислоты усиливается не только менадионом, но и другими хинонами [181]. При этом определяющим является редокс-потенциал хинона, который должен иметь более отрицательное значение, чем редокс-потенциал аскорбиновой кислоты.

Одним из параметров, регулирующих протекание окислительно-восстановительных процессов в клетках, является величина рН. Предполагается, что наблюдаемое уменьшение внутриклет-

точной концентрации ионов  $H^+$  (см. табл. 1) в опухолевых клетках снижает эффективность действия ряда противоопухолевых препаратов, включая адриамицин, паклитоксел и цисплатин [73]. При смещении величины кислотно-основного равновесия в цитоплазме опухолевых клеток легкого человека с pH 7.0 до pH 7.4 резистентность клеток к адриамицину увеличивалась в 2000 раз [93]. Показано, что действие аскорбиновой кислоты в высоких концентрациях сопровождается снижением внутриклеточного pH [117], что также способствует усилению окислительных процессов в клетках [5]. Теоретически и экспериментально установленная нами взаимосвязь кислотно-основного и редокс-гомеостаза клеток [5] дает возможность рассматривать регуляцию pH в качестве дополнительного инструмента, позволяющего повысить специфичность редокс-нанобиотехнологий. При этом следует отметить, что величина кальциевого ответа клеток на действие аскорбиновой кислоты зависит от величины внеклеточного pH [117] и активности электрон-транспортной цепи митохондрий [2]. Измененные pH-гомеостаз и редокс-гомеостаз опухолевых клеток могут усиливать кальциевый ответ при действии аскорбиновой кислоты, тем самым повышая ее цитотоксичность в отношении опухолевых клеток. Таким образом, аскорбиновая кислота, способная регулировать одновременно и кислотно-основное, и окислительно-восстановительное состояние опухолевых клеток, может служить прототипом для создания новых противоопухолевых агентов с механизмом бинарного регуляторного действия. При этом ключевой мишенью соответствующих нанобиотехнологий должны выступать компоненты электрон-транспортных цепей клеток.

Многочисленные исследования последних лет значительно расширили существующие представления о механизмах редокс-регуляции клеточных процессов. Новая роль физических процессов переноса электрона и протона в регуляции функциональной активности клеток требует разработки новых подходов к описанию молекулярно-клеточных событий с участием редокс-активных молекул. Описательный подход, не учитывающий физические закономерности взаимодействия реагирующих молекул и ионов, усложняет картину описания механизмов регуляции внутриклеточных процессов, создаваемую многочисленными участниками процессов внутриклеточной сигнализации. Центральное место в дальнейших исследованиях окислительно-восстановительных процессов в биологических системах должны занимать исследования физических закономерностей, определяющих свойства взаимодействующих редокс-активных молекул и направления переноса электронов и протонов.

Нет сомнения в том, что дальнейшие исследования редокс-свойств клеток позволят получить новые данные, важные для понимания общих закономерностей функционирования клетки и регуляции ее функциональной активности, что помимо фундаментального значения внесет существенный вклад в решение ряда практических вопросов, включая разработку новых редокс-нанобиотехнологий для медицинских приложений.

## Литература

1. Великий Н. Н., Вовк О. И., Афонюшкин Т. А. и др. // Эксперим. онкология. 2001. Т. 23. С. 39–42.
2. Голубева Е. Н., Мартинович Г. Г., Мартинович И. В., Черенкевич С. Н. // Кислород и антиоксиданты. 2010. № 2. С. 23–24.
3. Копнин Б. П. // Биохимия. 2000. Т. 65. С. 5–33.
4. Мартинович Г. Г., Мартинович И. В., Голубева Е. Н., Черенкевич С. Н. // Рецепторы и внутриклеточная сигнализация: сб. ст. / Под ред. В. П. Зинченко и др. М., 2011. Т. 2. С. 586–692.
5. Мартинович Г. Г., Мартинович И. В., Голубева Е. Н., Черенкевич С. Н. // Биофизика. 2009. Т. 54, № 5. С. 846–851.
6. Мартинович Г. Г., Мартинович И. В., Черенкевич С. Н. // Биофизика. 2008. Т. 53, № 4. С. 618–623.
7. Мартинович Г. Г., Черенкевич С. Н. // Биомед. химия. 2005. Т. 51, № 6. С. 626–633.
8. Мартинович Г. Г., Черенкевич С. Н. // Вестн. Белорус. ун-та. Сер. 1. 2004. № 1. С. 28–36.
9. Мартинович Г. Г., Черенкевич С. Н. // Вестн. Белорус. ун-та. Сер. 1. 2004. № 3. С. 14–19.
10. Мартинович Г. Г., Черенкевич С. Н. Окислительно-восстановительные процессы в клетках. Минск, 2008.
11. Мартинович Г. Г., Черенкевич С. Н. // Успехи физиол. наук. 2008. Т. 39, № 3. С. 29–44.
12. Соловьева М. Е., Соловьев В. В., Фасхутдинова А. А. и др. // Цитология. 2007. Т. 49, № 1. С. 70–78.
13. Черезов А. Е. Общая теория рака. Тканевый подход. М., 1997.
14. Черенкевич С. Н., Мартинович Г. Г., Мартинович И. В., Голубева Е. Н. // Журн. ГрГМУ. 2009. № 2. С. 9–11.

15. Akatov V. S., Solov'eva M. E., Leshchenko V. V., Teplova V. V. // Bull. Exp. Biol. Med. 2003. Vol. 136. P. 279–282.
16. Arismendi-Morillo G. J., Castellano-Ramirez A. V. // J. Electron. Microsc. 2008. Vol. 57. P. 33–39.
17. Armstrong J. S., Steinauer K. K., Hornung B. et al. // Cell Death Differ. 2002. Vol. 9. P. 252–263.
18. Armstrong J. S., Jones D. P. // FASEB J. 2002. Vol. 16. P. 1263–1265.
19. Armstrong J. S., Whiteman M., Yang H., Jones D. P. // BioEssays. 2004. Vol. 26. P. 894–900.
20. Artandi S. E., DePinho R. A. // Carcinogenesis. 2010. Vol. 31. P. 9–18.
21. Bae Y. S., Kang S. W., Seo M. et al. // J. Biol. Chem. 1997. Vol. 272. P. 217–221.
22. Bahlis N., McCafferty-Grad J., Jordan-McMurry I. et al. // Clin. Cancer Res. 2002. Vol. 8. P. 3658–3668.
23. Barazzone C., White C. W. // Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 2000. Vol. 22. P. 517–519.
24. Bellance N., Lestienne P., Rossignol R. // Front Biosci. 2009. Vol. 14. P. 4015–4034.
25. Bellosillo B., Villamor N., López-Guillermo A. et al. // Blood. 2001. Vol. 98. P. 2771–2777.
26. Bensasson R., Jossang A., Zahir A. et al. // Free Radic. Biol. Med. 1999. Vol. 27. P. 95–99.
27. Berneis K., Kofler M., Bollag W. et al. // Experientia. 1963. Vol. 19. P. 132–133.
28. Biroccio A., Benassi B., Filomeni G. et al. // J. Biol. Chem. 2002. Vol. 277. P. 43763–43770.
29. Borrás C., Esteve J., Vina J. et al. // J. Biol. Chem. 2004. Vol. 279, N 33. P. 34332–34335.
30. Boveris A., Cadenas E. // IUBMB Life. 2000. Vol. 50. P. 1–6.
31. Boveris A., Chance B. // Biochem. J. 1973. Vol. 134. P. 707–716.
32. Bragado P., Armesilla A., Silva A., Porras A. // Apoptosis. 2007. Vol. 12. P. 1733–1742.
33. Buettner G., Jurkiewicz B. // Radiat. Res. 1996. Vol. 145. P. 532–541.
34. Burdon R., Alliangana D., Gill V. // Free Radic. Res. 1995. Vol. 23. P. 471–486.
35. Burdon R., Gill V., Alliangana D. // Free Radic. Res. 1996. Vol. 24. P. 81–93.
36. Burdon R., Rice-Evans C. // Free Radic. Res. Commun. 1989. Vol. 6. P. 345–358.
37. Cadenas E. // Mol. Aspects of Med. 2004. Vol. 25. P. 17–26.
38. Cadenas E., Davies K. // Free Radic. Biol. Med. 2000. Vol. 29. P. 222–230.
39. Cameron E., Campbell A. // Chem. Biol. Interact. 1974. Vol. 9. P. 285–315.
40. Cameron E., Pauling L. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1976. Vol. 73. P. 3685–3689.
41. Cameron E., Pauling L. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1978. Vol. 75. P. 4538–4542.
42. Cardone R., Casavola V., Reshkin S. // Nat. Rev. Cancer. 2005. Vol. 5. P. 786–795.
43. Chandell N., Maltepe E., Goldwasser E. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1998. Vol. 95. P. 11715–11720.
44. Chatterjee A., Mambo E., Sidransky D. // Oncogene. 2006. Vol. 25. P. 4663–4674.
45. Chen G., Wang F., Trachootham D., Huang P. // Mitochondrion. 2010. Vol. 10. P. 614–625.
46. Chen Q., Espey M., Krishna M. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2005. Vol. 102. P. 13604–13609.
47. Chen Q., Espey M., Sun A. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2008. Vol. 105. P. 11105–11109.
48. Chiba T., Takahashi S., Sato N. et al. // Eur. J. Immunol. 1996. Vol. 26. P. 1164–1169.
49. Conour J. E., Graham W. V., Gaskin H. R. // Physiol. Genomics. 2004. Vol. 18. P. 196–205.
50. Creagan E., Moertel C. // N. Engl. J. Med. 1979. Vol. 301. P. 687–690.
51. Cuezva J., Krajewska M., de Heredia M. et al. // Cancer Res. 2002. Vol. 62. P. 6674–6681.
52. Cuezva J., Ostronoff L., Ricart J. et al. // J. Bioenerg. Biomembrane. 1997. Vol. 29. P. 365–377.
53. De Loecker W., Janssens J., Bonte J., Taper H. S. // Anticancer Res. 1993. Vol. 13. P. 103–106.
54. Djavaheri-Mergny M., Wietzerbin J., Besançon F. // Oncogene. 2003. Vol. 22. P. 2558–2567.
55. Dong L. F., Freeman R., Liu J. et al. // Clin. Cancer Res. 2009. Vol. 15. P. 1593–1600.
56. Engel R. H., Evens A. M. // Front. Biosci. 2006. Vol. 11. P. 300–312.
57. Fernandes C., Bonatto D., Laurindo F. R. // Studies on Cardiovascular Disorders. New York, 2010. P. 1–41.
58. Freeman B. A., Crapo J. D. // J. Biol. Chem. 1981. Vol. 256. P. 10986–10992.
59. Friesen C., Fulda S., Debatin K. // Cell Death Differ. 1999. Vol. 6. P. 471–480.
60. Friesen C., Kiass S., Debatin K. // Cell Death Differ. 2004. Vol. 11. P. S73–S85.
61. Fry F. H., Holme A. L., Giles N. M. et al. // Org. Biomol. Chem. 2005. Vol. 3. P. 2579–2587.
62. Galli S., Labato M., Bal de Kier Joffe E. et al. // Cancer Res. 2003. Vol. 63. P. 6370–6377.
63. Gambhir S. S. // Nat. Rev. Cancer. 2002. Vol. 2. P. 683–693.
64. Garcia-Ruiz C., Colell A., Mari M. et al. // J. Biol. Chem. 1997. Vol. 272. P. 11369–11377.
65. Giles N. M., Gutowski N. J., Giles G. I., Jacob C. // FEBS Lett. 2003. Vol. 535. P. 179–182.
66. Grad J., Bahlis N., Reis I. et al. // Blood. 2001. Vol. 98. P. 805–813.
67. Green D. R., Reed J. C. // Science. 1998. Vol. 281. P. 1309–1312.
68. Grogan T., Fenoglio-Prieser C., Zeheb R. et al. // Hum. Pathol. 2000. Vol. 31. P. 475–481.
69. Grossman N., Schneid N., Reuveni H. et al. // Lasers Surg. Med. 1998. Vol. 22. P. 212–218.
70. Gutteridge J., Ziai-Chang F. // Bioch. Biophys. Res. Comm. 1981. Vol. 99. P. 1354–1360.
71. Halestrap A. P., Woodfield K. Y., Connern C. P. // J. Biol. Chem. 1997. Vol. 272. P. 3346–3354.
72. Hanna M. G., Nelson I. P. // Cell Mol. Life Sci. 1999. Vol. 55. P. 691–706.
73. Harguindey S., Orive G., Luis Pedraz J. et al. // Biochim. Biophys. Acta. 2005. Vol. 1756. P. 1–24.
74. Hatzivassiliou G., Zhao F., Bauer D. et al. // Cancer Cell. 2005. Vol. 8. P. 311–321.
75. Hedley D., Chow S. // Meth. Cell Biol. 1994. Vol. 42. Pt. B. P. 31–44.
76. Holmuhamedov E., Lewis L., Bienengraeber M. et al. // FASEB J. 2002. Vol. 16. P. 1010–1016.

77. Honda T., Coppola S., Ghibelli L. et al. // *Cancer Gene Ther.* 2004. Vol. 11. P. 249–255.
78. Huang Z., Chen C., Zeng Z. et al. // *FASEB J.* 2001. Vol. 15. P. 19–21.
79. Huang P., Feng L., Oldham E. A. et al. // *Nature.* 2000. Vol. 407. P. 390–395.
80. Iida M., Sunaga S., Hirota N. et al. // *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 1997. Vol. 123. P. 619–622.
81. Iliopoulos O., Levy A. P., Jiang C. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1996. Vol. 93. P. 10595–10599.
82. Jezek P., Hlavata L. // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2005. Vol. 37. P. 2478–2503.
83. John A. P. // *Med. Hypotheses.* 2001. Vol. 57. P. 429–431.
84. Jones D. P. // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2008. Vol. 295. P. C849–C868.
85. Jones D. P. // *J. Intern. Med.* 2010. Vol. 268. P. 432–448.
86. Juan M., Wenzel U., Daniel H. et al. // *J. Agric. Food Chem.* 2008. Vol. 56. P. 4813–4818.
87. Kahlos K., Soini Y., Saily M. et al. // *Int. J. Cancer.* 2001. Vol. 95. P. 198–204.
88. Kamiguti A., Serrander L., Lin K. et al. // *J. Immunol.* 2005. Vol. 175. P. 8424–8430.
89. Kang Y., Lee E., Choi M. et al. // *Int. J. Cancer.* 2004. Vol. 112. P. 385–392.
90. Karu T. I. // *J. Photochem. Photobiol.* 1999. Vol. 49. P. 1–17.
91. Karu T. I. // *Proceed. of SPIE.* 2003. Vol. 5149. P. 60–66.
92. Kassouf W., Highshaw R., Nelkin G. et al. // *J. Urol.* 2006. Vol. 176. P. 1642–1647.
93. Keizer H., Joenje H. // *J. Natl. Cancer Inst.* 1989. Vol. 81. P. 706–709.
94. Kim H. J., Lee J. H., Kim S. J. et al. // *J. Neurosci.* 2010. Vol. 30. P. 3933–3946.
95. Kim J. W., Tchernyshyov I., Semenza G. L., Dang C. V. // *Cell Metab.* 2006. Vol. 3. P. 177–185.
96. Kim K., Pie J. E., Park J. H. et al. // *J. Nutr. Biochem.* 2006. Vol. 17. P. 454–462.
97. Kinnula V. L., Crapo J. D. // *Free Radic. Res. Commun.* 2004. Vol. 36. P. 718–744.
98. Kinnula V., Lehtonen S., Sormunen R. et al. // *J. Pathol.* 2002. Vol. 196. P. 316–323.
99. Kovacic P., Jacintho J. // *Curr. Med. Chem.* 2001. Vol. 8. P. 773–796.
100. Kovacic P., Osuna J. // *Curr. Pharm. Des.* 2000. Vol. 6. P. 277–309.
101. Kumar B., Koul S., Khandrika L. et al. // *Cancer Res.* 2008. Vol. 68. P. 1777–1785.
102. Kurbacher C., Wagner U., Kolster B. et al. // *Cancer Lett.* 1996. Vol. 103. P. 183–189.
103. Kurosu T., Fukuda T., Miki T., Miura O. // *Oncogene.* 2003. Vol. 22. P. 4459–4446.
104. Kuznetsov A., Margreiter R., Amberger A. et al. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2011. Vol. 1813. P. 1144–1152.
105. Lee Y., Kim H., Jung H. et al. // *Mol. Cells.* 2002. Vol. 14. P. 305–311.
106. Le S. B., Hailer M. K., Buhrow S. et al. // *J. Biol. Chem.* 2007. Vol. 282. P. 8860–8872.
107. López-Lázaro M. // *Mol. Med.* 2010. Vol. 16. P. 144–153.
108. López-Lázaro M. // *Int. J. Cancer.* 2007. Vol. 120. P. 1378–1380.
109. Lo Y. Y., Cruz T. F. // *J. Biol. Chem.* 1995. Vol. 270. P. 11727–11730.
110. Lu J., Chew E., Holmgren A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007. Vol. 104. P. 12288–12293.
111. Lu Y., Cederbaum A. // *Free Radic. Biol. Med.* 2007. Vol. 43. P. 1061–1175.
112. Mahmutoglu I., Kappus H. // *Biochem. Pharmacol.* 1985. Vol. 34. P. 3091–3094.
113. Maliszka K. L., Hasinoff B. B. // *Free Radic. Biol. Med.* 1996. Vol. 20. P. 905–914.
114. Maramag C., Menon M., Balaji K. // *Prostate.* 1997. Vol. 32. P. 188–195.
115. Martinovich G. G., Cherenkevich S. N., Sauer H. // *Eur. Biophys. J.* 2005. Vol. 34, N 7. P. 937–942.
116. Martinovich G. G., Martinovich I. V., Cherenkevich S. N. // *Biophysics.* 2011. Vol. 56, N 3. P. 444–451.
117. Martinovich G. G., Martinovich I. V., Cherenkevich S. N. // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2009. Vol. 147, N 4. P. 469–472.
118. Martinovich G. G., Martinovich I. V., Cherenkevich S. N., Sauer H. // *Cell Biochem. Biophys.* 2010. Vol. 58, N 2. P. 75–83.
119. Menon S. G., Sarsour E. H., Spitz D. R. et al. // *Cancer Res.* 2003. Vol. 62. P. 2109–2117.
120. Meurette O., Lefevre-Orfila L., Rebillard A. et al. // *Clin. Cancer Res.* 2005. Vol. 11. P. 3075–3083.
121. Miller T. W., Isenberg J. S., Roberts D. D. // *Chem. Rev.* 2009. Vol. 109. P. 3099–3124.
122. Moertel C., Fleming T., Creagan E. et al. // *N. Engl. J. Med.* 1985. Vol. 312. P. 137–141.
123. Moreno-Sánchez R., Rodríguez-Enríquez S., Marín-Hernández A., Saavedra E. // *FEBS J.* 2007. Vol. 274. P. 1393–1418.
124. Muller I. D. // *Int. J. Mol. Med.* 1998. Vol. 1. P. 491–494.
125. Nakazato T., Ito K., Miyakawa Y. et al. // *Haematologica.* 2005. Vol. 90. P. 317–325.
126. Nakazato T., Ito K., Ikeda Y., Kizaki M. // *Clin. Cancer Res.* 2005. Vol. 11. P. 6040–6049.
127. Neuzil J., Tomasetti M., Zhao Y. et al. // *Mol. Pharmacol.* 2007. Vol. 71. P. 1185–1199.
128. Noto V., Taper H., Jiang Y. et al. // *Cancer.* 1989. Vol. 63. P. 901–906.
129. Oberley L. W., Buettner G. R. // *Cancer Res.* 1979. Vol. 39. P. 1141–1149.
130. Omata Y., Lewis J., Rotenberg S. et al. // *J. Biomed. Mater. Res.* 2006. Vol. 77. P. 470–477.
131. Ough M., Lewis A., Bey E. A. et al. // *Cancer Biol. Ther.* 2005. Vol. 4. P. 95–102.
132. Padayatty S. J., Sun H., Wang Y. et al. // *Ann. Intern. Med.* 2004. Vol. 140. P. 533–537.
133. Packer L., Fuehr K. // *Nature.* 1977. Vol. 267. P. 423–425.
134. Park S., Han S., Park C. et al. // *Intern. J. Biochem. Cell Biol.* 2004. Vol. 36. P. 2180–2195.
135. Pei X. Y., Dai Y., Grant S. et al. // *Clin. Cancer Res.* 2004. Vol. 10. P. 3839–3852.
136. Pelicano H., Feng L., Zhou Y. et al. // *J. Biol. Chem.* 2003. Vol. 278. P. 37832–37839.
137. Pollard H. B., Levine M. A., Eidelman O., Pollard M. // *In Vivo.* 2010. Vol. 24. P. 249–255.
138. Prasad K. N., Sinha P. K., Ramanujam M., Sakamoto A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1979. Vol. 76. P. 829–832.

139. Raha S., Robinson B. // Trends in Biochem. Sci. 2000. Vol. 25. P. 502–508.
140. Ramanathan B., Jan K., Chen C. et al. // Cancer Res. 2005. Vol. 65. P. 8455–8460.
141. Renschler M. F. // Eur. J. Cancer. 2004. Vol. 40. P. 1934–1940.
142. Ristow M., Cuezva J. M. Cellular Respiration and Carcinogenesis. New York, 2009. P. 1–19.
143. Rosales-Corral S., Reiter R. J., Tan D. et al. // Antiox. Redox Signal. 2010. Vol. 13. P. 193–247.
144. Santamaria G., Martinez-Diez M., Fabregat I., Cuezva J. // Carcinogenesis. 2006. Vol. 27. P. 925–935.
145. Sattler M., Winkler T., Verma S. et al. // Blood. 1999. Vol. 93. P. 2928–2935.
146. Schaffer M., Ertl-Wagner B., Schaffer P. et al. // Curr. Med. Chem. 2005. Vol. 12. P. 1209–1215.
147. Sestili P., Brandi G., Brambilla L. et al. // J. Pharm. Exp. Ther. 1996. Vol. 277. P. 1719–1725.
148. Seyfried T. N., Shelton L. M. // Nutr. Metab. (Lond.) 2010. Vol. 7. P. 7.
149. Shanafelt T. D., Lee Y. K., Bone N. D. et al. // Blood. 2005. Vol. 105. P. 2099–2106.
150. Shrieve D., Bump E., Rice G. // J. Biol. Chem. 1988. Vol. 263. P. 14107–14114.
151. Sies H., Jones D. P. Encyclopedia of Stress. Elsevier; San Diego, 2007.
152. Simonnet H., Alazard N., Pfeiffer K. et al. // Carcinogenesis. 2002. Vol. 23. P. 759–768.
153. Soini Y., Kahlos K., Napankangas U. et al. // Clin. Cancer Res. 2001. Vol. 7. P. 1750–1757.
154. Song Y., Buettner G. R. // Free Radic. Biol. Med. 2010. Vol. 49. P. 919–962.
155. Starikova A. M., Pogorelova N. C., Kostyuk P. G. // Neuroscience. 2000. Vol. 95. P. 923–926.
156. Stoler D. L., Chen N., Basik M. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1999. Vol. 96. P. 15121–15126.
157. Suh J., Zhu B., Frei B. // Free Radic. Biol. Med. 2003. Vol. 34. P. 1306–1314.
158. Suh Y. A., Arnold R. S., Lassegue B. et al. // Nature. 1999. Vol. 401. P. 79–82.
159. Sundaresan M., Yu Z. X., Ferrans V. J. et al. // Science. 1995. Vol. 270. P. 296–299.
160. Sung J. Y., Hong J. H., Kang H. S. et al. // Immunopharmacology. 2000. Vol. 47. P. 35–44.
161. Sun Y. X., Zheng Q. S., Li G. et al. // Biomed. Environ. Sci. 2006. Vol. 19. P. 385–391.
162. Suzukawa K., Miura K., Mitsushita J. et al. // J. Biol. Chem. 2000. Vol. 275. P. 13175–13178.
163. Szatrowski T. P., Nathan C. F. // Cancer Res. 1991. Vol. 51. P. 794–798.
164. Taper H. S., de Gerlache J., Lans M., Roberfroid M. // Int. J. Cancer. 1987. Vol. 40. P. 575–579.
165. Taper H. S., Keyeux A., Roberfroid M. // Anticancer Res. 1996. Vol. 16. P. 499–503.
166. Tew K. D., Townsend D. M. // Curr. Opin. Chem. Biol. 2011. Vol. 15. P. 156–161.
167. Thannickal V., Hassoun P., White A., Fanburg B. // Am. J. Physiol. 1993. Vol. 265. P. L622–L626.
168. Thayyullathil F., Chathoth S., Hago A. et al. // Free Radic. Biol. Med. 2008. Vol. 45. P. 1403–1412.
169. Tolando R., Jovanovic A., Brigelius-Flohe R. et al. // Free Radic. Biol. Med. 2000. Vol. 28. P. 979–986.
170. Trachootham D., Alexandre J., Huang P. // Nat. Rev. Drug Discov. 2009. Vol. 8. P. 579–591.
171. Trump B. F., Berezsky I. K. // FASEB J. 1995. Vol. 9. P. 219–228.
172. Trunpower B. L. // J. Biol. Chem. 1990. Vol. 265. P. 11409–11412.
173. Tsujimoto Y., Nakagawa T., Shimizu S. // Biochim. Biophys. Acta. 2006. Vol. 1757. P. 1297–1300.
174. Ullrich V., Kissner R. // J. Inorg. Biochem. 2006. Vol. 100. P. 2079–2086.
175. Ungerstedt J. S., Sowa Y., Xu W. S. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2005. Vol. 102. P. 673–678.
176. Uzdensky A. B., Dergacheva O. Y., Zhavoronkova A. A. et al. // Life Sci. 2004. Vol. 74. P. 2185–2197.
177. Varbiro G., Veres B., Gallyas F., Sumegi B. // Free Radic. Biol. Med. 2001. Vol. 31. P. 548–558.
178. Veech R. L., Kashiwaya Y., Gates D. N. et al. // IUBMB Life. 2002. Vol. 54. P. 241–252.
179. Veech R. L., Lawson J. W., Cornell N. W., Krebs H. A. // J. Biol. Chem. 1979. Vol. 254. P. 6538–6547.
180. Verrax J., Beck R., Dejeans N. et al. // Anticancer Agents Med. Chem. 2011. Vol. 11. P. 213–221.
181. Verrax J., Delvaux M., Beghein N. et al. // Free Radic. Res. 2005. Vol. 39. P. 649–657.
182. Verrax J., Taper H., Buc Calderon P. // Curr. Mol. Pharm. 2008. Vol. 1. P. 80–92.
183. Vogelstein B., Kinzler K. W. // Nat. Med. 2004. Vol. 10. P. 789–799.
184. Wang F., Ogasawara M. A., Huang P. // Mol. Aspects Med. 2010. Vol. 31. P. 75–92.
185. Warburg O. // Science. 1956. Vol. 123. P. 309–314.
186. Wartenberg M., Deidershagen H., Hescheler J., Sauer H. // J. Biol. Chem. 1999. Vol. 274, N 39. P. 27759–27767.
187. Wartenberg M., Hescheler J., Sauer H. // Am. J. Physiol. 1997. Vol. 272. P. 1677–1683.
188. Wartenberg M., Wirtz N., Grob A. et al. // Bioelectromagnetics. 2008. Vol. 29. P. 47–54.
189. Weitsman G. E., Ravid A., Liberman U. A., Koren R. // Int. J. Cancer. 2003. Vol. 106. P. 178–186.
190. Weitsman G. E., Koren R., Zuck E. et al. // Free Radic. Biol. Med. 2005. Vol. 39. P. 266–278.
191. Wondrak G. T. // Antioxid. Redox Signal. 2009. Vol. 11. P. 3013–3069.
192. Xia C., Meng Q., Liu L. Z. et al. // Cancer Res. 2007. Vol. 67. P. 10823–10830.
193. Yamamoto T., Hsu S., Lewis J. et al. // J. Pharm. Exp. Ther. 2003. Vol. 307. P. 230–236.
194. Yanagawa T., Iwasa S., Ishii T. et al. // Cancer Lett. 2000. Vol. 56. P. 27–35.
195. Yang B., Kotani A., Arai K., Kusu F. // Anal. Sci. 2001. Vol. 17. P. 599–604.
196. Zatorska A., Maszewski J., Jozwiak Z. // Acta Biochim. Pol. 2003. Vol. 50. P. 825–836.
197. Zheng Q. T., Zhang Y. T., Zheng R. L. // Pharmazie. 2002. Vol. 57. P. 753–757.
198. Zhou Y., Hileman E., Plunkett W. et al. // Blood. 2003. Vol. 101. P. 4098–4104.
199. Zoete V., Bailly F., Maglia F. et al. // Free Radic. Biol. Med. 1999. Vol. 26. P. 1261–1266.
200. Zou W., Yue P., Lin N. et al. // Clin. Cancer Res. 2006. Vol. 12. P. 273–280.

*G. G. MARTINOVICH, I. V. MARTINOVICH, E. N. GOLUBEVA, S. N. CHERENKEVICH,  
Y. D. DEMIDCHIK, Y. M. GAIN, T. E. VLADIMIRSKAYA, M. L. LUSHCHYK*

**REDOX BIOTECHNOLOGIES AS THE BASIS FOR A NEW STRATEGY  
IN ANTICANCER THERAPY**

**Summary**

Recent concepts about redox signaling and redox homeostasis in tumor tissues are considered in the review. Mechanisms of cells transformation with the participation of reactive oxygen species are analyzed in detail. Special attention is given to the new technologies in the field of anticancer therapy, which are based on the redox regulation of cellular processes.

Национальная академия наук Беларуси