

Редокс-управление апоптозом опухолевых клеток при гипоксии

О.Л. Носарева*, Е.А. Степовая, Е.В. Шахристова, Д.В. Пашковский, В.Б. Рублевский

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия

Реферат

В настоящее время пристальное внимание уделяют исследованиям, направленным на поиск редокс-чувствительных мишеней регуляции клеточной гибели опухолевых клеток. Опухолевый рост характеризуется нарушением пролиферации, дифференцировки и апоптоза клеток на фоне развития окислительного стресса. Гипоксия способствует формированию дисфункции митохондрий и выступает дополнительным фактором, усугубляющим окислительный стресс в опухолевой клетке. Активные формы кислорода — универсальные повреждающие факторы, однако они могут выступать в роли модуляторов процессов, таких как рецепция, внутриклеточная сигнализация, пролиферация, апоптоз, при этом принимая участие в функционировании редокс-системы клеток и способствуя окислительной модификации макромолекул. Одной из возможных причин активации выработки активных форм кислорода является низкое содержание O_2 в клетке — конечного акцептора электронов для обеспечения функционирования ферментов дыхательной цепи митохондрий. Существенный вклад в поддержание баланса между прооксидантами и антиоксидантами клетки вносит система глутатиона. Роль этой системы обоснована восстановительным потенциалом глутатиона, который, выступая акцептором гидроксильного иона и синглетного кислорода, существенно снижает цитотоксическое и повреждающее действие активных форм кислорода. Вместе с тем, он служит коферментом глутатион-зависимых ферментов, которым принадлежит ведущая роль не только в обеспечении антиоксидантных процессов, но и в поддержании тиолдисульфидного равновесия. Гипоксия, выступая фактором активации свободнорадикального окисления на фоне нарушения регуляции пролиферации и апоптоза, способствует формированию устойчивости опухолевых клеток к химиотерапевтическому воздействию. В свете этого становится очевидной важность изучения редокс-зависимых механизмов, вовлечённых в регуляцию и реализацию гибели опухолевых клеток при недостаточном снабжении кислородом, что необходимо для разработки персонализированной противоопухолевой терапии. В статье представлен обзор современной литературы, включающий результаты собственных исследований, по изучению роли тиолдисульфидной системы и окислительно-модифицированных белков в редокс-регуляции пролиферации и апоптотической гибели опухолевых клеток, в том числе в условиях гипоксии.

Ключевые слова: опухолевые клетки, апоптоз, гипоксия, окислительный стресс, система глутатиона, редокс-статус.

Для цитирования: Носарева О.Л., Степовая Е.А., Шахристова Е.В., Пашковский Д.В., Рублевский В.Б. Редокс-управление апоптозом опухолевых клеток при гипоксии. *Казанский мед. ж.* 2023;104(3):381–392. DOI: 10.17816/KMJ112512.

REVIEW | DOI: 10.17816/KMJ112512

Redox control of tumor cell apoptosis during hypoxia

O.L. Nosareva*, E.A. Stepovaya, E.V. Shakhristova, D.V. Pashkovskiy, V.B. Rublevskiy
Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

Abstract

Currently, close attention is paid to studies aimed at searching for redox-sensitive targets for the regulation of tumor cell death. Tumor growth is characterized by impaired cell proliferation, differentiation, and apoptosis against the

*Для переписки: olnosareva@yandex.ru

Поступила 11.11.2022; принята в печать 23.01.2023;
опубликована: 03.05.2023.

© Эко-Вектор, 2023. Все права защищены.

*For correspondence: olnosareva@yandex.ru

Submitted 11.11.2022; accepted 23.01.2023;
published: 03.05.2023.

© Eco-Vector, 2023. All rights reserved.

background of oxidative stress. Hypoxia contributes to the formation of mitochondrial dysfunction and acts as an additional factor that exacerbates oxidative stress in the tumor cell. Reactive oxygen species are general damaging factors, however, they can act as modulators of processes such as reception, intracellular signaling, proliferation, apoptosis, while taking part in the functioning of the cell redox system and contributing to the oxidative modification of macromolecules. One of the possible reasons for the activation of the production of reactive oxygen species is the low content of O_2 in the cell, the final electron acceptor to ensure the functioning of the enzymes of the mitochondrial respiratory chain. The glutathione system makes a significant contribution to maintaining the balance between prooxidants and antioxidants in the cell. The role of this system is justified by the reduction potential of glutathione, which, acting as an acceptor of hydroxyl ions and singlet oxygen, significantly reduces the cytotoxic and damaging effects of reactive oxygen species. At the same time, it serves as a coenzyme for glutathione-dependent enzymes, which play a leading role not only in providing antioxidant processes, but also in maintaining the thiol disulfide balance. Hypoxia, which acts as a factor in the activation of free radical oxidation against the background of proliferation and apoptosis dysregulation, contributes to the formation of resistance of tumor cells to chemotherapeutic effects. In light of this, the importance of studying the redox-dependent mechanisms involved in the regulation and implementation of tumor cell death under insufficient oxygen supply becomes obvious, which is necessary for the development of personalized antitumor therapy. The article presents a review of modern literature, including the results of our own research, on the role of the thiol disulfide system and oxidatively modified proteins in the redox regulation of proliferation and apoptotic death of tumor cells, including under hypoxic conditions.

Keywords: tumor cells, apoptosis, hypoxia, oxidative stress, glutathione system, redox-status.

For citation: Nosareva OL, Stepovaya EA, Shakhristova EV, Pashkovskiy DV, Rublevskiy VB. Redox control of tumor cell apoptosis during hypoxia. *Kazan Medical Journal*. 2023;104(3):381–392. DOI: 10.17816/KMJ112512.

Список сокращений: АТФ — аденозинтрифосфат; АФК — активные формы кислорода; ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота; ЭПР — эндоплазматический ретикулум; F1H (от англ. factor inhibiting HIF-1) — фактор, ингибирующий гипоксия-индуцирующий фактор-1; GSH (от англ. glutathione-SH, reduced glutathione) — восстановленный глутатион; GSSG (от англ. glutathione-S-S-glutathione, oxidized glutathione) — окисленный глутатион; HIF (от англ. hypoxia inducible factors) — гипоксия-индуцирующий фактор; HRE (от англ. hypoxia-responsive element) — гипоксия-респонсивный элемент; PHD 1–3 (от англ. prolyl hydroxylase domain proteins) — пролилгидролаза.

Введение

В настоящее время актуально изучение молекулярных механизмов малигнизации и выживания опухолевых клеток. Апоптоз генетически детерминирован и лежит в основе жизненно важных процессов: эмбриогенеза, обновления клеток и тканей, старения. Нарушение регуляции процесса программированной гибели клеток — один из ведущих факторов развития многих заболеваний человека, таких как онкологические, нейродегенеративные, аутоиммунные и др. [1–3]. По этой причине изучение молекулярных механизмов реализации апоптотической гибели и функционирования сигнальных путей, которые контролируют фазы клеточного цикла и апоптоз, представляет собой актуальное направление как теоретической, так и практической отраслей медицины.

Опухолевый рост, гипоксия и окислительный стресс

Опухолевый рост характеризуется неконтролируемой скоростью репликации дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), нарушением дифференцировки клеток, апоптоза, формированием окислительного стресса, изменением

метаболизма [4–6]. Для реализации репликации необходим повышенный синтез макроэргов, который напрямую зависит от напряжения кислорода в клетке. Ведущими органеллами, обеспечивающими потребности синтеза аденозинтрифосфата (АТФ) и белков малигнизированной клетки для реализации высокой скорости деления и роста, являются митохондрии и эндоплазматический ретикулум (ЭПР) [7].

Взаимосвязь ЭПР и митохондрий опосредована поддержанием внутриклеточного гомеостаза ионов Ca^{2+} , которые, в свою очередь, влияют на реализацию и регуляцию программированной клеточной гибели [8]. При неконтролируемом росте клон опухолевых клеток может быть некоторое время лишён адекватной поставки кислорода из-за недостаточного ангиогенеза, поэтому в малигнизированных клетках развивается гипоксия, приводящая к нарушению функционирования дыхательной цепи митохондрий и увеличению продукции активных форм кислорода (АФК) [8, 9].

В этих условиях синтез АТФ в опухолевых клетках происходит за счёт гликолитического окисления глюкозы. Участие АФК в редокс-сигнализации определяет ведущую роль митохон-

дрий в процессе трансформации нормальных клеток в малигнизированные [10]. По мнению Y. Chen и соавт., опухолевый рост зависит от внутриклеточного уровня АФК. Низкая внутриклеточная концентрация АФК способствует пролиферации малигнизированных клеток и инвазии рака, в то время как чрезмерное содержание АФК в опухолевых клетках приводит к цитотоксическому эффекту [11–13].

Особенности метаболизма опухолевых клеток при гипоксии

Гипоксия и окислительный стресс лежат в основе развития ряда патологических процессов, в том числе опухолевого роста [14–16]. В настоящее время показано, что в ответ на недостаточное снабжение клеток кислородом и активацию свободнорадикального окисления возможен запуск апоптоза и других типов клеточной гибели (например, ферроптоз, некроз и аутофагия) [17]. Установлено, что низкое напряжение кислорода способствует нарушению реализации апоптоза опухолевых клеток, появлению дополнительной устойчивости к терапевтическому воздействию [18]. Молекулярный механизм, лежащий в основе таких изменений, — активация транскрипции генов, кодирующих информацию о белках, в том числе ферментах гликолиза и транскрипционных факторах: HIF (от англ. hypoxia inducible factors — гипоксия-индуцирующий фактор), ядерный фактор NF-κB, Araf-1 и др. [11, 19, 20].

Состояние гипоксии формируется в условиях внутриклеточного напряжения кислорода от 1 до 5%, а полное отсутствие кислорода (на практике ниже 0,02%) принято называть аноксией. Недостаточность снабжения кислородом может быть острой (от нескольких минут до нескольких часов) или хронической (от нескольких часов до нескольких дней). При этом как степень выраженности, так и продолжительность гипоксии бывают важными факторами, определяющими клеточный ответ на данное воздействие [18]. Актуально изучение роли внутриклеточной сигнализации в дисрегуляции апоптоза при гипоксии как нормальных, так и опухолевых клеток [15, 16, 21].

В ответ на гипоксию в клетке происходит активация транскрипционных факторов, обладающих широким спектром действия, называемых HIF. Семейство HIF включает три члена: HIF-1, HIF-2 и HIF-3. Однако ведущая роль при гипоксии, как полагают, принадлежит именно HIF-1. Общая черта всех транскрипционных факторов данной группы — их способность связываться с определённой нуклео-

тидной последовательностью ДНК, называемой HRE (от англ. hypoxia-responsive element — элемент, реагирующий на гипоксию), в промоторной области более чем 100 генов, экспрессия которых, таким образом, регулируется напряжением кислорода. Все транскрипционные факторы HIF представляют собой гетеродимеры, состоящие из двух частей: чувствительной к содержанию кислорода HIF α -субъединицы и стабильной HIF β -субъединицы. Установлено, что активность всего комплекса HIF регулируется за счёт α -субъединицы, которая в условиях нормоксии быстро разрушается, предотвращая димеризацию [22].

В эукариотических клетках наиболее детально изучены следующие сенсоры низкого парциального давления кислорода в среде: ферменты цепи переноса электронов во внутренней мембране митохондрий, представители семейства пролилгидроксилаз [prolyl hydroxylase domain (PHD 1–3) proteins] и фактор, ингибирующий HIF-1 (factor inhibiting HIF-1 — FIH). Повышение продукции АФК в условиях гипоксии происходит в основном за счёт потери электронов на I и III комплексах цепи переноса электронов внутренней мембраны митохондрий [23, 24]. Таким образом, продуцируя АФК и служа депо ионов Ca²⁺, митохондрии в условиях гипоксии занимают ведущую позицию в запуске и регуляции сигнальных каскадов [5, 11, 25].

Активность пролилгидроксилаз транскрипционного фактора HIF может ингибироваться при повышении концентрации АФК, что обусловлено окислением входящего в состав активных центров ферментов иона железа. В то же время, ряд антиоксидантов, включая N-ацетилцистеин, может препятствовать вызванной АФК стабилизации HIF-1 α [26]. Помимо этого, FIH и/или пролилгидроксилазы могут быть вовлечены в возникновение нарушений метаболизма опухолевой клетки при снижении напряжения кислорода, так как этим ферментам необходим молекулярный кислород для гидроксирования аминокислотных остатков пролина в составе HIF. Таким образом, FIH и PHD являются компонентами, чувствительными к содержанию кислорода и необходимыми для оптимальной стабилизации и активации HIF-1 α [22].

В условиях нормоксии PHD гидроксилируют HIF-1 α по определённым остаткам пролина в составе домена, ответственного за кислород-зависимую деградацию. Гидроксильированные остатки HIF-1 α узнаются E3-убиквитинлигазой для убиквитинилирования и дальнейшей деградации фактора с помощью

протеасом [27, 28]. В условиях гипоксии гидроксилирование ограничено, поэтому HIF-1 α может перемещаться в ядро, димеризоваться с HIF-1 β , связываться с HRE и активировать транскрипцию генов.

Значительно позднее была показана способность F1H гидроксилировать аспарагиновые остатки в С-концевом активационном домене HIF-1 α и таким образом ингибировать транскрипционную активность фактора. Активность и PHD, и F1H зависит от концентрации кислорода, однако для инактивации F1H необходимо напряжение кислорода выше 5% [29].

Следовательно, некоторые гены, экспрессия которых регулируется гипоксией, активируются при разном напряжении кислорода в клетке. Это позволяет объяснить тот факт, что при разном уровне гипоксии формируются различные клеточные ответы. В качестве примера можно отметить, что максимальная экспрессия фактора роста эндотелия сосудов возникает при 2% внутриклеточном уровне O₂, в то время как максимальная экспрессия HIF-1 α — при 1% напряжении O₂ [30].

Участие HIF-1 в регуляции экспрессии генов преимущественно сводится к трём основным стратегиям, направленным на поддержание жизнедеятельности клеток в неблагоприятных условиях: активации гликолиза, синтезу АТФ и ангиогенезу. К генам-мишеням относятся гены, кодирующие фактор роста эндотелия сосудов, эритропоэтин, инсулиноподобный фактор роста 2, трансформирующий фактор роста α , транспортёр глюкозы-1, ферменты гликолиза [31, 32]. Активацию транскрипции этих генов обычно отмечают при средней степени гипоксии. Однако при выраженной и продолжительной гипоксии, сопряжённой с накоплением АФК, происходит HIF-1-зависимая активация генов, участвующих в реализации гибели клеток (гены, кодирующие белок p53, каспазу 3 и др.) [33].

Транскрипционные факторы семейства HIF рассматривают как основные регуляторы клеточного ответа в условиях гипоксии посредством изменения активности киназы mTOR (от англ. mammalian target of rapamycin — мишень рапамицина у млекопитающих) и компонентов сигнального каскада UPR (от англ. unfolded protein response — отклик неструктурированных белков). Кроме этого, в условиях гипоксии изменяется функционирование ЭПР, сопряжённое с нарушением фолдинга белков, приводящее к инициации клеточной гибели. Важнейшую роль в запуске сигнального каскада выполняет глюкозорегулируемый шаперон GRP 78 [34].

В условиях гипоксии опухолевые клетки способны к индукции HIF-1-опосредованных факторов, таких как инсулиноподобный фактор роста 2, способствующий выживанию клеток; транспортёр глюкозы-1, повышающий потребление глюкозы; фактор роста эндотелия сосудов, стимулирующий ангиогенез; рецептор фактора роста гепатоцитов (с-Met), повышающий способность к инвазии; рецептор 4 для хемокинов подсемейства CXС, повышающий способность к метастазированию [35]. Определённые авторы утверждают, что резистентность к терапии, метастазирование и ухудшение общего прогноза онкологических заболеваний прямо коррелирует с формированием гипоксии в опухолевых клетках [18, 36].

В одной опухоли одновременно может присутствовать несколько типов клеток с разным уровнем напряжения кислорода, так как сосудистый кровоток может быть неодинаков в разных участках опухоли [18]. Изменение метаболизма клеток в ответ на гипоксию приводит к стимулированию ангиогенеза и транскрипционной активности генома, способствующих трансформации нормальных клеток в малигнизированные [36]. Помимо этого, гипоксия при опухолевом прогрессировании запускает ряд мутаций в генах, регулирующих пролиферацию клеток, таких, например, как гены белка p53 и рецептора эпидермального фактора роста, тем самым способствуя увеличению злокачественности опухолевых клеток [37].

Реализация апоптоза зависит от внутриклеточной концентрации ионов Ca²⁺, регулируемой работой ион-транспортёрных систем. Существуют данные, указывающие на то обстоятельство, что даже небольшие сдвиги уровня кальция в клетке могут приводить к неблагоприятным эффектам: нарушению пролиферации и апоптоза [38]. Поступление ионов Ca²⁺ в клетку через цитоплазматическую мембрану происходит преимущественно за счёт лиганд-зависимых и потенциал-зависимых кальциевых каналов [39].

В цитоплазме ионы Ca²⁺ либо взаимодействуют с кальций-связывающими белками, либо поступают в ЭПР и митохондрии, либо удаляются в межклеточное пространство Ca²⁺-АТФазой и Na⁺/Ca²⁺-обменником, расположенными на плазмолемме. Уровень ионов Ca²⁺ в ЭПР зависит, с одной стороны, от работы Ca²⁺-АТФазы, а с другой, от рецепторов к инозитол-1,4,5-трифосфату и рианодиновых рецепторов. Помимо этого, данный показатель зависит от активности кальций-связывающих белков (кальретикулина, кальсеквестрина)

в ЭПР. Поступление ионов Ca^{2+} в митохондрии осуществляется через унипорт, а высвобождение может происходить разными путями: реверсированием унипорта, за счёт работы Na^+/H^+ -зависимого Ca^{2+} -обменника или в результате открытия митохондриальных пор [40]. Нарушение внутриклеточного гомеостаза ионов Ca^{2+} — характерный признак апоптоза. При этом происходит значительное повышение концентрации ионов Ca^{2+} в цитоплазме как за счёт увеличенного поступления в клетку, так и вследствие высвобождения из ЭПР и митохондрий [41].

Таким образом, сниженное внутриклеточное содержание кислорода неизбежно влечёт за собой нарушение функционирования митохондрий, развитие окислительного стресса и изменение содержания ионов Ca^{2+} . В условиях усиленной пролиферации и нарушенной клеточной дифференцировки на фоне окислительного стресса возникают нарушения регуляции и реализации апоптоза опухолевых клеток. По этой причине исследования молекулярных механизмов регуляции внутриклеточной передачи сигнала для реализации апоптоза в условиях окислительного стресса, сопровождающего развитие гипоксии, остаются по-прежнему актуальными и позволят расширить, в том числе, существующие фундаментальные представления о механизмах поддержания редокс-баланса клетки, управления функциональной активностью ион-транспортирующих систем при гипоксии опухолевых клеток.

Редокс-регуляция в опухолевых клетках

С позиции молекулярной биологии АФК не только являются цитотоксическими агентами, но и, при определённых условиях, выступают как сигнальные молекулы для редокс-регуляции клеточных функций [13, 42, 43]. Чувствительность редокс-зависимых сигнальных путей обеспечена окислительной модификацией макромолекул, служащих внутриклеточными сенсорами изменения редокс-баланса [44]. Актуально изучение редокс-управления активностью ключевых компонентов сигнальных путей, факторов транскрипции, апоптоза путём глутатионилирования [45–47].

Проведённые нами исследования на опухолевых клеточных линиях позволили установить взаимосвязи между изменениями редокс-статуса системы глутатиона, окислительной модификацией белков и нарушением регуляции клеточной гибели и пролиферации. Так, было показано, что культивирование клеток линии MCF-7 в присутствии протектора SH-групп бел-

ков и пептидов (1,4-дителиозитрита) приводит к снижению пролиферативной активности клеток на фоне изменения редокс-состояния, обусловленного уменьшением концентрации циклина E, CDK2 и CDK4 под влиянием систем глутаредоксина и глутатиона, а также к выраженному защитному влиянию соединения на процессы окислительной модификации протеинов (снижение уровня карбонильных производных белков при спонтанном и металл-катализируемом окислении, содержания битирозина и окисленного триптофана по сравнению с аналогичными показателями в интактных клетках линии MCF-7) [6, 48].

Опухолевые клетки линии P19 в условиях гипоксии характеризовались повышенной продукцией АФК, изменением редокс-статуса клетки. При этом установлена прямая зависимость между нарушением регуляции кальциевого гомеостаза, глутатионилированием белков, деполяризацией внутренней митохондриальной мембраны и запуском запрограммированной гибели опухолевых клеток [15, 16, 49].

Применение ингибитора синтеза глутатиона *de novo* (бутионин-сульфоксимины) приводило к активации запрограммированной гибели опухолевых клеток линии Jurkat за счёт усиления образования гидроксильного радикала и возрастания концентрации карбонильных производных белков на фоне снижения содержания белковосвязанного глутатиона и окисленного триптофана [50].

Основными представителями АФК принято считать синглетный кислород $^1\text{O}_2$, супероксидный анион-радикал $\text{O}_2^{\cdot-}$, гидроксильный радикал HO^{\cdot} , пероксидный радикал HOO^{\cdot} , и, конечно, пероксид водорода H_2O_2 [51, 52].

Постоянно образующиеся в клетке АФК инактивируются антиоксидантной системой, включающей ферментативное и неферментативное звенья. Нарушение работы данной системы лежит в основе формирования окислительного стресса, характеризующегося накоплением окислительно-модифицированных макромолекул в клетке [53, 54]. К основным антиоксидантам относятся низкомолекулярные (витамины E и C, глутатион и др.) и высокомолекулярные (ферменты супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы) соединения [53, 55].

Глутатион [γ -L-глутамил-L-цистеинилглицин, GSH (от англ. glutathione-SH, reduced glutathione) — восстановленный глутатион], трипептид, содержащий тиоловую группу, синтезирующийся в цитозоле клеток в два этапа с использованием энергии АТФ.

На первом этапе за счёт активности γ -глутамилцистеинсинтетазы из глутамата и цистеина образуется γ -глутамилцистеин, после чего глутатионсинтетаза использует этот продукт и глицин как субстраты для синтеза глутатиона. За счёт присутствия остатка цистеина в составе глутатиона этот пептид играет важную роль в регуляции состояния дисульфидных связей в белках, а также содержания прооксидантов в клетке [56–58]. Важность глутатиона как внутриклеточного редокс-буфера подтверждается тем фактом, что он обнаруживает низкий редокс-потенциал ($E_0' = -240$ мВ), содержится в клетках в высоких концентрациях и принимает участие во многих клеточных реакциях: внутриклеточная передача сигнала, метаболизм ксенобиотиков, регуляция пролиферации и апоптоза [47, 54–56, 59].

Несмотря на то обстоятельство, что синтез глутатиона происходит исключительно в цитозоле, он присутствует во многих органеллах, включая ЭПР, митохондрии и ядро [57, 60]. При этом важно отметить, что распределённый по компартаментам клетки глутатион образует независимые редокс-пулы с разным редокс-потенциалом [61]. В ядре глутатион поддерживает функционально активное состояние белков путём глутатионирования сульфгидрильных групп, что необходимо для протекания таких важных процессов, как транскрипция и репарация ДНК [57, 62]. В ЭПР трипептид находится в основной в окисленной форме (GSSG — от англ. glutathione-S-S-glutathione, oxidized glutathione), принимая участие в формировании дисульфидных связей при фолдинге синтезируемых белков [62]. Митохондриальная фракция глутатиона составляет порядка 10–15% его общего содержания в клетке и представлена преимущественно восстановленной формой. Учитывая объём митохондриального матрикса, концентрация митохондриального глутатиона аналогична цитозольной фракции и составляет 10–14 мМ [62].

На сегодняшний день показано, что АФК вовлечены в различные сигнальные каскады, приводящие к разным типам биологических ответов клеток [13, 42, 43, 63]. Среди всего многообразия АФК только H_2O_2 обладает всеми характеристиками, предъявляемыми к вторичным посредникам: во-первых, это низкомолекулярная электрически нейтральная молекула, способная диффундировать и свободно проникать через клеточные мембраны; во-вторых, H_2O_2 быстро генерируется в ответ на различные стимулы, а также может быть легко удалён посредством ряда механизмов; в-третьих, H_2O_2

способен воздействовать на определённые белки, имеющие в составе тиоловые группы в активных центрах [64].

Основной источник возникновения молекул пероксида водорода в клетках — реакция дисмутации супероксидного анион-радикала ($O_2^{\cdot-}$), катализируемая супероксиддисмутазой (КФ 1.15.1.1) [65]. Далее образованный пероксид водорода может диффундировать в цитозоль или принимать участие в последовательности реакций, приводящих к образованию других свободных радикалов, например гидроксильного радикала, способного окислять биомолекулы (белки, липиды, ДНК) [66, 67].

Необходимо отметить, что существует целый ряд важных биомолекул, таких как ФАДН₂¹, ФМНН₂², НАДН³, которые могут спонтанно окисляться в присутствии O_2 с образованием $O_2^{\cdot-}$. Однако в большинстве случаев это не приводит к значительному увеличению уровня $O_2^{\cdot-}$ в клетках, так как он в основном образуется за счёт реакции одноэлектронного восстановления O_2 в цепи переноса электронов в митохондриях [68]. Причём комплекс I дыхательной цепи генерирует $O_2^{\cdot-}$ преимущественно в митохондриальном матриксе, в то время как комплекс III — по обе стороны внутренней мембраны митохондрий [69]. На данный процесс оказывает влияние ряд факторов, в том числе внутриклеточное напряжение кислорода [70].

Большая часть, образовавшегося в клетках $O_2^{\cdot-}$ превращается в пероксид водорода. Однако $O_2^{\cdot-}$, избежавший деградации системой антиоксидантной защиты, реагирует преимущественно с оксидом азота и металлами с переходной валентностью, например с железом в составе железосерных центров белков [(2Fe-2S)-центры в составе белковых молекул]. Среди всего разнообразия Fe-S-содержащих белков, взаимодействующих с $O_2^{\cdot-}$, можно отметить аконитазу, рибонуклеотидредуктазу и гуанилатциклазу [71].

Пероксид водорода способен участвовать в реакциях обратимой окислительной модификации тиоловых групп белков и тем самым регулировать их функции. Как сигнальная молекула пероксид водорода может реагировать непосредственно с аминокислотными остатками в составе белковых молекул либо оказывать воздействие через пару GSH/GSSG [69]. Установлено, что в ряде случаев это приводит к ин-

¹ФАД — флавинадениндинуклеотид.

²ФМН — флавинмоноклеотид.

³НАД — никотинамидадениндинуклеотид.

гибированию активности ферментов, например из семейства тирозиновых фосфатаз [72].

Один из основных факторов, определяющих способность белков взаимодействовать с пероксидом водорода и, следовательно, участвовать в редокс-регуляции, — скорость реакции тиоловых групп с H_2O_2 . Большая биодоступность для взаимодействия с пероксидом водорода остатков цистеина в составе белков обеспечена формой цистеинтиолат-аниона. Однако при физиологическом водородном показателе (рН) для большинства тиоловых групп в белках величина pK_a (равновесие: белок-SH \leftrightarrow белок-S $^-$ +H $^+$) составляет 8,0–8,5, следовательно, атомы серы и водорода связаны. По этой причине в случае расположения цистеина рядом с положительно заряженными аминокислотными остатками величина pK_a снижается до 5, что приводит к депротонированию SH-группы и окислению пероксидом водорода в сульфеновую кислоту (R-SOH): белок-S $^-$ +H $_2O_2$ →белок-SOH+HO $^-$. Данный молекулярный механизм лежит в основе специфической окислительной модификации остатков цистеина в белках, что является неотъемлемой частью редокс-сигнализации [73].

Некоторые белки способны образовывать сульфенаты, но из-за их низкой стабильности они часто подвергаются дальнейшим модификациям или восстановлению [74]. В присутствии пероксида водорода сульфеновая кислота может быть окислена в сульфиновую и сульфоновую кислоты: белок-SOH+H $_2O_2$ →белок-SO $_2$ H+H $_2O$ и белок-SO $_2$ H+H $_2O_2$ →белок-SO $_3$ H+H $_2O$.

В отличие от сульфеновой, сульфиновая и сульфоновая кислоты стабильны и плохо поддаются восстановлению *in vivo*. Образование сульфиновых кислот играет важную роль в редокс-регуляции активности белков, в частности пероксиредоксинов (окисление цистеиновых остатков, входящих в состав активных центров ферментов, с образованием сульфиновых кислот приводит к их ингибированию). Интересно отметить, что сульфиновые кислоты в структуре пероксиредоксинов могут быть медленно восстановлены в сульфеновые кислоты за счёт активности сестринов в реакции с участием АТФ. Образование сульфиновых кислот считают необратимым, по крайней мере, не обнаружены механизмы их восстановления *in vivo* [75].

Важно отметить, что сульфеновые кислоты в составе белков могут реагировать с тиоловыми группами, входящими в состав низкомолекулярных соединений или других

белков с формированием дисульфидных связей: белок-SOH+RS $^-$ →белок-S-S-R+HO $^-$.

Если в составе белковой молекулы присутствуют тиоловые группы, то происходит образование внутримолекулярных дисульфидных связей. Однако если в белковой молекуле нет свободных SH-групп для взаимодействия, то окисленные в сульфенаты тиоловые группы остатков цистеина могут образовывать смешанные дисульфиды с низкомолекулярными соединениями, содержащими SH-группы (например, с глутатионом, цистеином или коэнзимом А), либо с другими белками (например, тиоредоксином). Возможно, из-за высокой концентрации глутатиона в клетках глутатионирование протеинов бывает довольно часто наблюдаемой модификацией, которая может регулировать активность целого ряда белков [76, 77].

Помимо модификации цистеиновых остатков, пероксид водорода может принимать участие в редокс-регуляции через сдвиг соотношения в клетке восстановленных и окисленных форм глутатиона и тиоредоксина. И тот, и другой присутствуют в клетках в высоких концентрациях и поддерживаются в восстановленном состоянии за счёт активности НАДФН 4 -зависимых редуктаз [78, 79]. Поскольку реакции, описанные выше, могут протекать *in vivo*, образование дисульфидных связей между двумя молекулами глутатиона и внутримолекулярных дисульфидных связей в тиоредоксине за счёт ферментативного разрушения пероксида водорода — более вероятный механизм H $_2O_2$ -зависимой редокс-сигнализации.

Утилизация пероксида водорода происходит благодаря активности каталазы (КФ 1.11.1.6), глутатионпероксидазы (КФ 1.11.1.9) и пероксиредоксина (КФ 1.11.1.15) [80]. В результате повышается концентрация окисленных форм глутатиона и тиоредоксина, что приводит к их взаимодействию с ключевыми тиоловыми группами в составе молекул белков за счёт реакций тиолдисульфидного обмена: белок-S $^-$ +GSSG→белок-SSG+GS $^-$. Эти реакции протекают в клетках довольно медленно, однако глутаредоксин способен ускорять данные реакции [46, 81].

Для участия в редокс-сигнализации окислительная модификация белков должна быть обратимой и контролируемой. В большинстве случаев вызванные пероксидом водорода изменения бывают обратимыми за счёт взаимодействия с восстановленными пулами глутатиона и тиоредоксина. Таким образом, их редокс-

⁴ НАДФ — никотинамиддинуклеотидфосфат.



Рис. 1. Молекулярные механизмы нарушения регуляции и реализации апоптоза в опухолевых клетках при гипоксии; АТФ — аденозинтрифосфат; ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота

состояние является важным фактором, влияющим на посттрансляционную модификацию белков. Поскольку восстановление сульфидов в составе белков — АТФ-зависимый процесс, это связано с энергетическим состоянием клетки. Глутатион также участвует в восстановлении окисленных SH-групп белков, причём реакции деглутатионирования, как и глутатионирования, катализируются глутаредоксинами [46].

Также было показано, что внутриклеточное повышение уровня свободных радикалов часто приводит к наработке $O_2^{\cdot-}$ (в результате депротонирования HO_2^{\cdot}) и H_2O_2 . В присутствии ионов металлов переменной валентности две АФК могут взаимодействовать друг с другом с образованием гидроксильного радикала: $O_2^{\cdot-} + H_2O_2 \rightarrow O_2 + HO^{\cdot} + HO^{\cdot}$ [82].

Важная особенность глутатионпероксидазы — наличие в активном центре атома селена в составе остатка аминокислоты L-селеноцистеина [83]. Также селенопротеином в организме млекопитающих служит тиоредоксинредуктаза (КФ 1.8.1.9) [84, 85]. У млекопитающих обнаружено 8 изоформ глутатионпероксидазы, кодируемых разными генами [86]. Все изоферменты различаются по локализации в организме и субстратной специфичности. Так, глутатионпероксидаза 1 присутствует в цитоплазме и отвечает за разрушение пероксида водорода в клетках млекопитающих, в то же время глутатионпероксидаза 4 катализирует восстановление перекисей липидов мембраны.

Как было отмечено выше, в отличие от каталазы глутатионпероксидазе для восстановле-

ния H_2O_2 нужен GSH. Данное обстоятельство обуславливает важную роль глутатионпероксидазы как редокс-сенсора уровня восстановленного глутатиона в клетке. Участвуя в восстановлении перекисей, глутатионпероксидазы вовлекаются в процессы клеточной редокс-сигнализации. Кроме того, благодаря их активности увеличивается концентрация GSSG, вызывающего посттрансляционную модификацию белков (глутатионирование) [87].

Окисленный глутатион вновь восстанавливается за счёт НАДФН \cdot H⁺ благодаря активности глутатионредуктазы (КФ 1.8.1.7). Движение электронов происходит в направлении от НАДФН \cdot H⁺ к ФАД и далее на дисульфиды в структуре фермента, которые в своей восстановленной форме могут взаимодействовать с GSSG по механизму ковалентной модификации: $GSSG + НАДФН \cdot H^+ \rightarrow 2GSH + НАДФ^+$.

Пероксиредоксины восстанавливают H_2O_2 за счёт SH-групп белков, главным образом тиоредоксина: $H_2O_2 + \text{тиоредоксин}-(SH)_2 \rightarrow 2H_2O + \text{тиоредоксин}-(SS)$. Окисленная форма тиоредоксина восстанавливается тиоредоксинредуктазой в присутствии НАДФН \cdot H⁺. В активном центре пероксиредоксинов находятся один или два остатка цистеина.

Результаты проведённых нами исследований и данные литературы представлены на рис. 1.

Заключение

В настоящее время пристальное внимание уделяют исследованиям, направленным на поиск редокс-чувствительных мишеней регуляции клеточной гибели опухолевых клеток. Наруше-

ния реализации и регуляции апоптоза возникают при опухолевом росте, становясь важными факторами, определяющими возникновение и развитие злокачественных новообразований.

Таргетная активация апоптоза в опухолевых клетках — одна из целей разрабатываемой в настоящее время противоопухолевой терапии [88]. Ввиду того, что неотъемлемой частью патогенеза опухолевого роста является активация свободнорадикального окисления, а АФК могут принимать непосредственное участие во внутриклеточной сигнализации, модуляцию состояния системы глутатиона рассматривают как один из перспективных подходов для редокс-управления клеточной гибелью малигнизированных клеток [58].

Гипоксия, выступающая фактором активации свободнорадикального окисления на фоне нарушения регуляции пролиферации и апоптоза, способствует формированию устойчивости к химиотерапевтическому воздействию на опухолевые клетки [18]. В связи с этим становится очевидной важность изучения механизмов, вовлечённых в регуляцию и реализацию гибели опухолевых клеток при недостаточном снабжении кислородом, что необходимо для дальнейшего формирования аспектов персонализированной противоопухолевой терапии.

Участие авторов. О.Л.Н и Е.В.Ш. — сбор и анализ результатов и литературы; Е.А.С. — анализ результатов и литературы, руководство работой; Д.В.П. и В.Б.Р. — поиск литературы.

Источник финансирования. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов по представленной статье.

ЛИТЕРАТУРА

- D'Arcy MS. Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. *Cell Biol Int*. 2019;43(6):582–592. DOI: 10.1002/cbin.11137.
- Garg AD, Dudek-Peric AM, Romano E, Agostinis P. Immunogenic cell death. *Int J Dev Biol*. 2015;59(1–3):131–140. DOI: 10.1387/ijdb.150061pa.
- Goldar S, Khaniani MS, Derakhshan SM, Baradaran B. Molecular mechanisms of apoptosis and roles in cancer development and treatment. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2015;16(6):2129–2144. DOI: 10.7314/apjcp.2015.16.6.2129.
- Ciccarese F, Ciminale V. Escaping death: mitochondrial redox homeostasis in cancer cells. *Front Oncol*. 2017;7:117. DOI: 10.3389/fonc.2017.00117.
- Носарева О.Л., Степовая Е.А., Рязанцева Н.В., Закирова Е.В., Мазунин И.О., Литвинова Л.С., Сохоневич Н.А., Веснина О.Н., Шахристова Е.В. Нарушения экспрессии мРНК Hsp27 и убиквитина как механизм ускользания опухолевых клеток линии Jurkat от апоптоза. *Бюллетень сибирской медицины*. 2015;14(1):66–72. [Nosareva OL, Stepovaya EA, Ryazantseva NV, Zakirova EV, Mazunin IO, Litvinova LS, Sokhnevich NA, Vesnina ON, Shakhristova EV. Disruption of expression of mRNA Hsp27 and ubiquitin as a mechanism of escaping from apoptosis of jurkat line tumor cells. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2015;14(1):66–72. (In Russ.)] EDN: TPQHJF.
- Шахристова Е.В., Степовая Е.А., Носарева О.Л., Рудиков Е.В., Егорова М.Ю., Егорова Д.Ю., Новицкий В.В. Роль глутаредоксина и глутатиона в пролиферации опухолевых клеток молочной железы при действии протектора тиоловых групп. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2017;37(3):5–10. [Shakhristova EV, Stepovaya EA, Nosareva OL, Rudikov EV, Egorova MYu, Egorova DYU, Novitsky VV. The role of glutaredoxin and glutathione in proliferation of breast cancer cells under the effect of 1,4-dithioerythriol, a thiol group protector. *Siberian Scientific Medical Journal*. 2017;37(3):5–10. (In Russ.)] EDN: YTUAVZ.
- Avolio R, Matassa DS, Criscuolo D, Landriscina M, Esposito F. Modulation of mitochondrial metabolic reprogramming and oxidative stress to overcome chemoresistance in cancer. *Biomolecules*. 2020;10(1):135. DOI: 10.3390/biom10010135.
- Marchi S, Patergnani S, Missiroli S, Morciano G, Rimesi A, Wieckowski MR, Giorgi C, Pinton P. Mitochondrial and endoplasmic reticulum calcium homeostasis and cell death. *Cell Calcium*. 2018;69:62–72. DOI: 10.1016/j.ceca.2017.05.003.
- Yang Y, Karakhanova S, Hartwig W, D'Haese JG, Philippov PP, Werner J, Bazhin AV. Mitochondria and mitochondrial ROS in cancer: Novel targets for anticancer therapy. *J Cell Physiol*. 2016;231(12):2570–2581. DOI: 10.1002/jcp.25349.
- Bak DW, Weerapana E. Cysteine-mediated redox signalling in the mitochondria. *Mol Biosyst*. 2015;11(3):678–697. DOI: 10.1039/c4mb00571f.
- Chen Y, Zhang H, Zhou HJ, Ji W, Min W. Mitochondrial redox signaling and tumor progression. *Cancers (Basel)*. 2016;8(4):40. DOI: 10.3390/cancers8040040.
- Kirtonia A, Sethi G, Garg M. The multifaceted role of reactive oxygen species in tumorigenesis. *Cell Mol Life Sci*. 2020;77(22):4459–4483. DOI: 10.1007/s00018-020-03536-5.
- Gill JG, Piskounova E, Morrison SJ. Cancer, oxidative stress, and metastasis. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. 2016;81:163–175. DOI: 10.1101/sqb.2016.81.030791.
- Moloney JN, Cotter TG. ROS signalling in the biology of cancer. *Semin Cell Dev Biol*. 2018;80:50–64. DOI: 10.1016/j.semcdb.2017.05.023.
- Носарева О.Л., Орлов Д.С., Шахристова Е.В., Степовая Е.А. Молекулярные механизмы влияния N-этилмалеимида и 1,4-дителиоэритритола на регуляцию апоптоза опухолевых клеток линии P19 при гипоксии. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020;19(2):72–77. [Nosareva OL, Orlov DS, Shakhristova EV, Stepovaya EA. Molecular mechanisms of the effects of n-ethylmaleimide and 1,4-dithioerythritol on regulation of apoptosis in p19 cells under hypoxia. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020;19(2):72–77. (In Russ.)] DOI: 10.20538/1682-0363-2020-2-72-77.
- Носарева О.Л., Орлов Д.С., Шахристова Е.В., Степовая Е.А., Садыкова А.А. Роль N-ацетилцистеина в регуляции апоптоза опухолевых клеток линии P19 при гипоксии. *Сибирский онкологический журнал*. 2020;19(3):102–108. [Nosareva OL, Orlov DS, Shakhristova EV, Stepovaya EA, Sadykova AA. Effect of n-acetylcysteine on apoptosis of p19 cancer cells during hypoxia. *Siberian journal of oncology*. 2020;19(3):102–108. (In Russ.)] DOI: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-102-108.
- Xie Y, Hou W, Song X, Yu Y, Huang J, Sun X, Kang R, Tang D. Ferroptosis: Process and function. *Cell Death Differ*. 2016;23(3):369–379. DOI: 10.1038/cdd.2015.158.

18. Saxena K, Jolly MK. Acute vs. chronic vs. cyclic hypoxia: Their differential dynamics, molecular mechanisms, and effects on tumor progression. *Biomolecules*. 2019;9(8):339. DOI: 10.3390/biom9080339.
19. Кобляков В.А. Гипоксия и гликолиз как возможные объекты противоопухолевого воздействия. *Успехи молекулярной онкологии*. 2014;(2):44–49. [Koblyakov VA. Hypoxic state and glycolysis as a possible anticancer therapeutic target. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii*. 2014;(2):44–49. (In Russ.)] EDN: TRRYQB.
20. Куликов В.А., Беляева Л.Е. Метаболическое перепрограммирование раковых клеток. *Вестник Витебского государственного медицинского университета*. 2013;12(2):6–18. [Kulikov VA, Belyaeva LE. Metabolic reprogramming of cancer cells. *Vestnik of Vitebsk State Medical University*. 2013;12(2):6–18. (In Russ.)] EDN: QCLMJT.
21. Marchi S, Bittremieux M, Missiroli S, Morganti C, Patergnani S, Sbrano L, Rimessi A, Kerkhofs M, Parys JB, Bultynck G, Giorgi C, Pinton P. Endoplasmic reticulum-mitochondria communication through Ca²⁺ signaling: The importance of mitochondria-associated membranes (MAMs). *Adv Exp Med Biol*. 2017;997:49–67. DOI: 10.1007/978-981-10-4567-7_4.
22. Webb JD, Coleman M, Pugh CW. Hypoxia, hypoxia-inducible factors (HIF), HIF hydroxylases and oxygen sensing. *Cell Mol Life Sci*. 2009;66(22):3539–3554. DOI: 10.1007/s0018-009-0147-7.
23. Shvetsova AN, Mennerich D, Kerätär JM, Hiltunen JK, Kietzmann T. Non-electron transfer chain mitochondrial defects differently regulate HIF-1 α degradation and transcription. *Redox Biol*. 2017;12:1052–1061. DOI: 10.1016/j.redox.2017.05.003.
24. Klimova T, Chandel NS. Mitochondrial complex III regulates hypoxic activation of HIF. *Cell Death Differ*. 2008;15(4):660–666. DOI: 10.1038/sj.cdd.4402307.
25. Hempel N, Trebak M. Crosstalk between calcium and reactive oxygen species signaling in cancer. *Cell Calcium*. 2017;63:70–96. DOI: 10.1016/j.ceca.2017.01.007.
26. Fong GH, Takeda K. Role and regulation of prolyl hydroxylase domain proteins. *Cell Death Differ*. 2008;15(4):635–641. DOI: 10.1038/cdd.2008.10.
27. Zhao S, El-Deiry WS. Identification of Smurf2 as a HIF-1 α degrading E3 ubiquitin ligase. *Oncotarget*. 2021;12(20):1970–1979. DOI: 10.18632/oncotarget.28081.
28. Rashid M, Zadeh LR, Baradaran B, Molavi O, Ghesmati Z, Sabzichi M, Ramezani F. Up-down regulation of HIF-1 α in cancer progression. *Gene*. 2021;798:145796. DOI: 10.1016/j.gene.2021.145796.
29. Berchner-Pfannschmidt U, Tug S, Kirsch M, Fandrey J. Oxygen-sensing under the influence of nitric oxide. *Cell Signal*. 2010;22(3):349–356. DOI: 10.1016/j.cellsig.2009.
30. Hill RP, Marie-Egyptienne DT, Hedley DW. Cancer stem cells, hypoxia and metastasis. *Semin Radiat Oncol*. 2009;19(2):106–111. DOI: 10.1016/j.semradonc.2008.
31. Kobliakov V. HIF α as a target for different oncoproteins during carcinogenesis. *Advances Mol Oncol*. 2018;5:64–71. DOI: 10.17650/2313-805X-2018-5-4-64-71.
32. Xie H, Simon MC. Oxygen availability and metabolic reprogramming in cancer. *J Biol Chem*. 2017;292(41):16825–16832. DOI: 10.1074/jbc.R117.799973.
33. Chen W, Ostrowski RP, Obenaus A, Zhang JH. Pro-death or prosurvival: Two facets of hypoxia inducible factor-1 in perinatal brain injury. *Exp Neurol*. 2009;216(1):7–15. DOI: 10.1016/j.expneurol.2008.10.016.
34. Wouters BG, Koritzinsky M. Hypoxia signalling through mTOR and the unfolded protein response in cancer. *Nat Rev Cancer*. 2008;8(11):851–864. DOI: 10.1038/nrc2501.
35. Куликов В.А., Беляева Л.Е. О биоэнергетике опухолевой клетки. *Вестник Витебского государственного медицинского университета*. 2015;14(6):5–14. [Kulikov VA, Belyaeva LE. On bioenergetics of a tumoral cell. *Vestnik of Vitebsk State Medical University*. 2015;14(6):5–14. (In Russ.)] EDN: VHILLL.
36. Semenza GL. Defining the role of hypoxia-inducible factor 1 in cancer biology and therapeutics. *Oncogene*. 2010;29(5):625–634. DOI: 10.1038/onc.2009.441.
37. Heddleston JM, Li Z, Lathia JD, Bao S, Hjelmeland AB, Rich JN. Hypoxia inducible factors in cancer stem cells. *Br J Cancer*. 2010;102(5):789–795. DOI: 10.1038/sj.bjc.6605551.
38. Pinto MC, Kihara AH, Goulart VA, Tonelli FM, Gomes KN, Ulrich H, Resende RR. Calcium signaling and cell proliferation. *Cell Signal*. 2015;27(11):2139–2149. DOI: 10.1016/j.cellsig.2015.08.006.
39. Patergnani S, Danese A, Bouhamida E, Aguiari G, Previati M, Pinton P, Giorgi C. Various aspects of calcium signaling in the regulation of apoptosis, autophagy, cell proliferation, and cancer. *Int J Mol Sci*. 2020;21(21):8323. DOI: 10.3390/ijms21218323.
40. Cui C, Merritt R, Fu L, Pan Z. Targeting calcium signaling in cancer therapy. *Acta Pharm Sin B*. 2017;7(1):3–17. DOI: 10.1016/j.apsb.2016.11.001.
41. Wang M, Tan J, Miao Y, Li M, Zhang Q. Role of Ca²⁺ and ion channels in the regulation of apoptosis under hypoxia. *Histol Histopathol*. 2018;33(3):237–246. DOI: 10.14670/HH-11-918.
42. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З., Бондарь И.А., Труфакин В.А. *Окислительный стресс. Патологические состояния и заболевания*. Новосибирск: Сибирское университетское издательство; 2017. 284 с. [Men'shchikova EB, Zenkov NK, Lankin VZ, Bondar' IA, Trufakin VA. *Oxidative stress: Pathological states and diseases*. Novosibirsk: Sibirskoe Universitetskoe Izdatel'stvo; 2017. 284 p. (In Russ.)]
43. Chatterjee R, Chatterjee J. ROS and oncogenesis with special reference to EMT and stemness. *Eur J Cell Biol*. 2020;9(2–3):151073. DOI: 10.1016/j.ejcb.2020.151073.
44. Chandel NS, McClintock DS, Feliciano CE, Wood TM, Melendez JA, Rodriguez AM, Schumacker PT. Reactive oxygen species generated at mitochondrial complex III stabilize hypoxia-inducible factor-1 α during hypoxia: a mechanism of O₂ sensing. *J Biol Chem*. 2000;275(33):25130–25138. DOI: 10.1074/jbc.M001914200.
45. Дубинина Е.Е. *Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток (жизнь и смерть, создание и разрушение)*. Физиологические и клинико-биохимические аспекты. СПб.: Медицинская пресса; 2006. 400 с. [Dubinina EE. *Products of oxygen metabolism in the functional activity of cells (life and death, creation and destruction)*. Physiological, clinical and biochemical aspects. St. Petersburg: Medical Press; 2006. 400 p. (In Russ.)]
46. Kalinina E, Novichkova M. Glutathione in protein redox modulation through S-glutathionylation and S-nitrosylation. *Molecules*. 2021;26(2):435. DOI: 10.3390/molecules26020435.
47. Носарева О.Л., Степовая Е.А., Шахристова Е.В., Алексеева О.Н., Кузьменко Д.И., Садькова А.А., Новицкий В.В. Роль редокс-статуса и окислительной модификации белков в реализации апоптоза лимфоцитов крови человека в норме и при экспериментальном окислительном стрессе. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2019;105(3):327–338. [Nosareva OL, Stepovaya EA, Shakhristova EV, Alekseeva ON,

- Kuzmenko DI, Sadykova AA, Novitsky VV. The role of redox status and oxidative modification of proteins in implementing apoptosis in human blood lymphocytes in norm and under experimental oxidative stress. *Russian Journal of Physiology*. 2019;105(3):327–338. (In Russ.) DOI: 10.1134/S0869813919030063.
48. Shakhristova EV, Stepovaya EA, Ryazantseva NV, Nosareva OL, Yakushina VD, Ivanov VV, Novitsky VV. The role of protein oxidative modification and the cellular redox status in realization of apoptosis of MCF-7 breast adenocarcinoma cells. *Biology Bulletin*. 2016;43(5):385–389. DOI: 10.1134/S1062359016050095.
49. Орлов Д.С., Рязанцева Н.В., Степовая Е.А., Носарева О.Л., Шахристов Е.В., Иванов В.В. Редокс-зависимые механизмы дисрегуляции апоптоза опухолевых клеток при гипоксии. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2017;37(1):21–26. [Orlov DS, Ryazantseva NV, Stepovaya EA, Nosareva OL, Shakhristova EV, Ivanov VV. Redox-dependent mechanisms of apoptosis dysregulation in tumor cells under hypoxia. *Siberian Scientific Medical Journal*. 2017;37(1):21–26. (In Russ.)] EDN: XUWEVT.
50. Nosareva OL, Stepovaya EA, Ryazantseva NV, Shakhristova EV, Egorova MY, Novitsky VV. The role of the glutathione system in oxidative modification of proteins and dysregulation of apoptosis in Jurkat tumor cells. *Bull Exp Biol Med*. 2017;164(2):199–202. DOI: 10.1007/s10517-017-3957-x.
51. Нельсон Д., Коке М. *Основы биохимии Ленинджера*. В 3 т. Пер. с англ. Москва: Бином. Лаборатория знаний; 2014. Т. 2. 640 с. [Nelson D, Cox M. *Lehninger Principles of Biochemistry*. In three volumes. Translation from English. Moscow: Binom. Laboratoriya znaniy; 2014. Vol. 2. 640 p. (In Russ.)]
52. Herb M, Gluschko A, Schramm M. Reactive oxygen species: Not omnipresent but important in many locations. *Front Cell Dev Biol*. 2021;9:716406. DOI: 10.3389/fcell.2021.716406.
53. Chio IIC, Tuveson DA. ROS in Cancer: The Burning Question. *Trends Mol Med*. 2017;23(5):411–429. DOI: 10.1016/j.molmed.2017.03.004.
54. Kalinina EV, Gavriluk LA. Glutathione synthesis in cancer cells. *Biochemistry (Moscow)*. 2020;85(8):895–907. DOI: 10.1134/S0006297920080052.
55. Kalinina EV, Chernov NN, Novichkova MD. Role of glutathione, glutathione transferase, and glutaredoxin in regulation of redox-dependent processes. *Biochemistry (Mosc)*. 2014;79(13):1562–1583. DOI: 10.1134/S0006297914130082.
56. Poole LB. The basics of thiols and cysteines in redox biology and chemistry. *Free Radic Biol Med*. 2015;80:148–157. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2014.11.013.
57. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Глутатион ядра клетки и его функции. *Биомедицинская химия*. 2010;56(6):657–662. [Kulinsky VI, Kolesnichenko LS. Nuclear glutathione and its functions. *Biomeditsinskaya Khimiya*. 2010;56(6):657–662. (In Russ.)] DOI: 10.18097/pbmc20105606657.
58. Desideri E, Ciccarone F, Ciriolo MR. Targeting glutathione metabolism: partner in crime in anticancer therapy. *Nutrients*. 2019;11(8):1926. DOI: 10.3390/nu11081926.
59. Шахристов Е.В., Степовая Е.А., Носарева О.Л., Рудиков Е.В., Новицкий В.В. Глутатион и глутаредоксин в росковитинопосредованном ингибировании пролиферации клеток аденокарциномы молочной железы. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2017;72(4):261–267. [Shakhristova EV, Stepovaya EA, Nosareva OL, Rudikov EV, Novitsky VV. Glutathione and glutaredoxin in roscovitine-mediated inhibition of breast cancer cell proliferation. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2017;72(4):261–267. (In Russ.)] DOI: 10.15690/vramn849.
60. Deponte M. The incomplete glutathione puzzle: just guessing at numbers and figures? *Antioxid Redox Signal*. 2017;27(15):1130–1161. DOI: 10.1089/ars.2017.7123.
61. Traverso N, Ricciarelli R, Nitti M, Marengo B, Furfaro AL, Pronzato MA, Marinari UM, Domenicotti C. Role of glutathione in cancer progression and chemoresistance. *Oxid Med Cell Longev*. 2013;2013:972913. DOI: 10.1155/2013/972913.
62. Scirè A, Cianfruglia L, Minelli C, Bartolini D, Torquato P, Principato G, Galli F, Armeni T. Glutathione compartmentalization and its role in glutathionylation and other regulatory processes of cellular pathways. *Biofactors*. 2019;45(2):152–168. DOI: 10.1002/biof.1476.
63. Sies H. Hydrogen peroxide as a central redox signaling molecule in physiological oxidative stress: oxidative eustress. *Redox Biol*. 2017;11:613–619. DOI: 10.1016/j.redox.2016.12.035.
64. Sies H, Berndt C, Jones DP. Oxidative stress. *Annu Rev Biochem*. 2017;86:715–748. DOI: 10.1146/annurev-biochem-061516-045037.
65. Wang Y, Branicky R, Noë A, Hekimi S. Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. *J Cell Biol*. 2018;217(6):1915–1928. DOI: 10.1083/jcb.201708007.
66. Idelchik MDPS, Begley U, Begley TJ, Melendez JA. Mitochondrial ROS control of cancer. *Semin Cancer Biol*. 2017;47:57–66. DOI: 10.1016/j.semcancer.2017.04.005.
67. Никитина О.А., Даренская М.А., Семенова Н.В., Колесникова Л.И. Система антиоксидантной защиты: регуляция метаболических процессов, генетические детерминанты, методы определения. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2022;42(3):4–17. [Nikitina OA, Darenenskaya MA, Semenova NV, Kolesnikova LI. Antioxidant defense system: regulation of metabolic processes, genetic determinants, methods of determination. *Siberian Scientific Medical Journal*. 2022;42(3):4–17. (In Russ.)] DOI: 10.18699/SSMJ20220301.
68. Bunik VI. Redox-driven signaling: 2-oxo acid dehydrogenase complexes as sensors and transmitters of metabolic imbalance. *Antioxid Redox Signal*. 2019;30(16):1911–1947. DOI: 10.1089/ars.2017.7311.
69. Sies H. Role of metabolic H₂O₂ generation: Redox signaling and oxidative stress. *J Biol Chem*. 2014;289(13):8735–8741. DOI: 10.1074/jbc.R113.544635.
70. Nicholls DG. Mitochondrial membrane potential and aging. *Aging Cell*. 2004;3(1):35–40. DOI: 10.1111/j.1474-9728.2003.00079.x.
71. Castro L, Tórtora V, Mansilla S, Radi R. Aconitases: non-redox iron-sulfur proteins sensitive to reactive species. *Acc Chem Res*. 2019;52(9):2609–2619. DOI: 10.1021/acs.accounts.9b00150.
72. Salmee A, Andersen JN, Myers MP, Meng TC, Hinks JA, Tonks NK, Barford D. Redox regulation of protein tyrosine phosphatase 1B involves a sulphenyl-amide intermediate. *Nature*. 2003;423(6941):769–773. DOI: 10.1038/nature01680.
73. Putker M, Vos HR, Dansen TB. Intermolecular disulfide-dependent redox signalling. *Biochem Soc Trans*. 2014;42(4):971–978. DOI: 10.1042/BST20140097.
74. Lo Conte M, Carroll KS. The redox biochemistry of protein sulfenylation and sulfinylation. *J Biol Chem*. 2013;288(37):26480–26488. DOI: 10.1074/jbc.R113.467738.
75. Budanov AV, Sablina AA, Feinstein E, Koonin EV, Chumakov PM. Regeneration of peroxiredoxins by p53-regulated sestrins, homologs of bacterial AhpD. *Science*. 2004;304(5670):596–600. DOI: 10.1126/science.1095569.
76. Sabens Liedhegner EA, Gao XH, Mieryl JJ. Mechanisms of altered redox regulation in neurodegenerative

diseases — focus on S-glutathionylation. *Antioxid Redox Signal*. 2012;16(6):543–566. DOI: 10.1089/ars.2011.4119.

77. Носарева О.Л., Степовая Е.А., Рязанцева Н.В., Шахристова Е.В., Веснина О.Н., Новицкий В.В. Роль окислительной модификации белков в редокс-регуляции активности каспазы-3 в лимфоцитах крови при окислительном стрессе *in vitro*. *Бюллетень сибирской медицины*. 2015;14(6):61–67. [Nosareva OL, Stepovaya EA, Ryzantseva NV, Shakhristova EV, Vesnina ON, Novitsky VV. The role of protein oxidative modification in redox-regulation of caspase-3 activity in blood lymphocytes during oxidative stress *in vitro*. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2015;14(6):61–67. (In Russ.)] EDN: VKXLWR.

78. Miller CG, Holmgren A, Arnér ESJ, Schmidt EE. NADPH-dependent and -independent disulfide reductase systems. *Free Radic Biol Med*. 2018;127:248–261. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.03.051.

79. Lu J, Holmgren A. The thioredoxin antioxidant system. *Free Radic Biol Med*. 2014;66:75–87. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.07.036.

80. Veal EA, Day AM, Morgan BA. Hydrogen peroxide sensing and signaling. *Mol Cell*. 2007;26(1):1–14. DOI: 10.1016/j.molcel.2007.03.016.

81. Ren X, Sengupta R, Lu J, Lundberg JO, Holmgren A. Characterization of mammalian glutaredoxin isoforms as S-denitrosylases. *FEBS Lett*. 2019;593(14):1799–1806. DOI: 10.1002/1873-3468.13454.

82. Kehrer JP. The Haber–Weiss reaction and mechanisms of toxicity. *Toxicology*. 2000;149(1):43–50. DOI: 10.1016/S0300-483X(00)00231-6.

83. Cao C, Leng Y, Huang W, Liu X, Kufe D. Glutathione peroxidase 1 is regulated by the c-Abl and Arg tyrosine kinases. *J Biol Chem*. 2003;278(41):39609–39614. DOI: 10.1074/jbc.M305770200.

84. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Система глутатиона. I. Синтез, транспорт глутатионтрансферазы, глутатионпероксидазы. *Биомедицинская химия*. 2009;55(3):255–277. [Kulinsky VI, Kolesnichenko LS. Glutathione system. I. Synthesis, transport, glutathione transferases, glutathione peroxidases. *Biomeditsinskaya Khimiya*. 2009;55(3):255–277. (In Russ.)] EDN: KMSTKZ.

85. Steinbrenner H, Speckmann B, Klotz LO. Selenoproteins: antioxidant selenoenzymes and beyond. *Arch Biochem Biophys*. 2016;595:113–119. DOI: 10.1016/j.abb.2015.06.024.

86. Paukert T, Sailer R, Strauss WS, Schubert-Zsilavecz M, Zimmer A. Glutathione peroxidase isoenzymes in human tumor cell lines. *Pharmazie*. 2011;66(11):894–898. PMID: 22204137.

87. Coimbra-Costa D, Alva N, Duran M, Carbonell T, Rama R. Oxidative stress and apoptosis after acute respiratory hypoxia and reoxygenation in rat brain. *Redox Biol*. 2017;12:216–225. DOI: 10.1016/j.redox.2017.02.014.

88. Tang JY, Ou-Yang F, Hou MF, Huang HW, Wang HR, Li KT, Fayyaz S, Shu CW, Chang HW. Oxidative stress-modulating drugs have preferential anticancer effects — involving the regulation of apoptosis, DNA damage, endoplasmic reticulum stress, autophagy, metabolism, and migration. *Semin Cancer Biol*. 2019;58:109–117. DOI: 10.1016/j.semcancer.2018.08.010.

Сведения об авторах

Носарева Ольга Леонидовна, докт. мед. наук, проф., каф. биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия; olnosareva@yandex.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7441-5554>

Степовая Елена Алексеевна, докт. мед. наук, проф., каф. биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия; muir@mail.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9339-6304>

Шахристова Евгения Викторовна, канд. мед. наук, доц., каф. биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия; shaxristova@yandex.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2938-1137>

Пашковский Даниил Витальевич, студ., Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия; danpash86@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4590-0400>

Рублевский Вячеслав Борисович, студ., Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия; rublevskiyvb1@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1195-098X>

Author details

Ol'ga L. Nosareva, M.D., D. Sci. (Med.), Prof., Depart. of Biochemistry and Molecular Biology with Course of Clinical Laboratory Diagnostics, Siberian State Medical University, Tomsk, Russia; olnosareva@yandex.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7441-5554>

Elena A. Stepovaya, M.D., D. Sci. (Med.), Prof., Depart. of Biochemistry and Molecular Biology with Course of Clinical Laboratory Diagnostics, Siberian State Medical University, Tomsk, Russia; muir@mail.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9339-6304>

Evgenija V. Shakhristova, M.D., Cand. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Depart. of Biochemistry and Molecular Biology with Course of Clinical Laboratory Diagnostics, Siberian State Medical University, Tomsk, Russia; shaxristova@yandex.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2938-1137>

Daniil V. Pashkovskiy, Stud., Siberian State Medical University, Tomsk, Russia; danpash86@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4590-0400>

Vyacheslav B. Rublevskiy, Stud., Siberian State Medical University, Tomsk, Russia; rublevskiyvb1@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1195-098X>