

УДК 577.114.7

## ВЛИЯНИЕ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА НА КАНЦЕРОГЕНЕЗ

**Баштанова А.А.**

*ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет», Уфа,  
e-mail: arinebashtanova@gmail.com*

При избыточной концентрации АФК вызывают генетические мутации, повреждают ДНК, клеточную мембрану, хроматин и способствуют развитию канцерогенеза. Системы образования АФК возникают во всех отделах клетки спонтанно или с участием ферментов. АФК продуцирует в большей степени дыхательная цепь митохондрий. Также АФК поддерживают иммунную защиту организма усиливая синтез цитокинов и иммунных рецепторов. В реакциях АФК с ненасыщенными жирными кислотами происходит свободно-радикальный процесс – перекисное окисление липидов (ПОЛ), который должен контролироваться на определенном уровне. Активация ПОЛ сигнализирует о наличии в организме патологий, таких как онкологические заболевания. При высоком уровне содержания АФК происходит окислительный стресс, который приводит к повреждению наиболее важных биологических молекул – нуклеиновых кислот, белков, липидов. В настоящее время окислительный стресс в организме рассматривается как универсальный неспецифический механизм инициации опухолевого роста, процесс окислительного стресса осуществляет антителозависимую цитотоксичность. При активации фагоцитов, которая возникает при контакте плазматической мембраны с опухолевой клеткой, при этом возникает состояние – респираторный взрыв.

**Ключевые слова:** канцерогенез, фагоциты, активные формы кислорода, NADPH-оксидаза

## THE ROLE OF OXIDATIVE SYSTEMS IN THE DEVELOPMENT OF CARCINOGENESIS

**Bashtanova A.A.**

*Bashkir state medical university, Ufa, e-mail: arinebashtanova@gmail.com*

When excessive concentrations of ROS cause genetic mutations, damage the DNA, cell membrane, chromatin and contribute to the development of carcinogenesis. ROS education systems occur in all parts of the cell spontaneously or with the participation of enzymes. ROS produces a greater mitochondrial respiratory chain. ROS also support the body's immune defense by enhancing the synthesis of cytokines and immune receptors. In the reactions of ROS with unsaturated fatty acids, a free-radical process occurs – lipid peroxidation (LPO), which must be controlled at a certain level. The activation of the FLOOR signals the presence of pathologies in the body, such as cancer. At high levels of ROS, oxidative stress occurs, which causes damage to the most important biological molecules – nucleic acids, proteins, and lipids. Currently, oxidative stress in the body is considered as a universal nonspecific mechanism for the initiation of tumor growth, the process of oxidative stress provides antibody-dependent cytotoxicity. With the activation of phagocytes, which occurs when the plasma membrane contacts the tumor cell, a state occurs – a respiratory burst.

**Keywords:** carcinogenesis, phagocytes, reactive oxygen species, NADPH oxidase

**Канцерогенез** является сложным патофизиологическим процессом возникновения и развития опухоли. В последние годы широкое признание получила свободно-радикальная теория канцерогенеза.

Активные формы кислорода (АФК) – это группа свободно-радикальных молекул, являющихся частично восстановленными производными кислорода, обладающих очень мощной окислительной способностью. К ним относятся: супероксидный анион-радикал ( $O_2^-$ ), перекись водорода ( $H_2O_2$ ), гидроксильный радикал ( $OH^\cdot$ ), синглетный кислород ( $^1O_2$ ), гипогалоиды и другие. Зачастую они являются побочными продуктами работы дыхательной цепи – группы митохондриальных белков, утилизирующих кислород и непрерывно поставляющих клетке энергию в форме АТФ. Системы образования АФК возникают во всех отделах клетки спонтанно или с участием ферментов. Существенный вклад в этот процесс вносит дыхательная цепь митохондрий при низкой

концентрации АДФ. Важную роль играет цитохром P-450, локализованный в эндоплазматической сети. Также АФК вырабатывается ферментами с участием NADPH в плазматической мембране фагоцитов [1].

АФК необходимы для иммунной защиты, так как усиливают синтез цитокинов и иммунных рецепторов, способствуют выходу лейкоцитов в ткани, лизируют фагоцитированные бактерии, подавляют синтез ДНК и деление клеток и могут активировать апоптоз, что предупреждает прогрессирование опухолевых процессов.

АФК, вызывая генетические мутации, играют существенную роль на всех этапах канцерогенеза. Считается, что они вызывают мутаций больше, чем алкилирующие вещества. Действие АФК заключается в повреждении хроматина, ДНК, клеточных мембран, кальциевых каналов, что вызывает нарушение поступления кальция в клетку. Наиболее

реактивная форма АФК –  $\text{OH}^\cdot$ -радикал вызывает разрывы цепей ДНК, повреждение хромосом, что, в свою очередь, запускают механизмы повреждения и гибели клеток, а также их злокачественного перерождения. Мутации под действием АФК в половых клетках, служат источником наследуемых онкологических заболеваний [2].

При реакции АФК с ненасыщенными жирными кислотами плазматических мембран происходит перекисное окисление липидов (ПОЛ) – свободно-радикальный процесс, постоянно протекающий в организме. В норме он поддерживается на определенном уровне.

Активация ПОЛ характерна при таком патологическом состоянии как канцерогенез, который является многоступенчатым процессом накопления мутаций и других генетических изменений, приводящих к развитию разнообразных форм рака.

При избыточной концентрации АФК повреждают клетки и способствуют развитию острых воспалительных и злокачественных процессов. Высвобождение АФК в ходе «респираторного взрыва» происходит в фагосомы и в окружающую среду, при этом бактериальные клетки теряют свою биологическую активность, также при этом могут повреждаться сами фагоциты и здоровые нормальные ткани.

При чрезмерном накоплении АФК, пероксидов и окисленных продуктов происходит окислительный стресс, который способствует разрушению фагоцитируемого объекта. В этом случае АФК выделяются во внешнюю среду. Это универсальный эффекторный механизм фагоцита. Окислительный стресс приводит к повреждению наиболее важных биологических молекул – нуклеиновых кислот, белков, липидов. В настоящее время окислительный стресс в организме рассматривается как универсальный неспецифический механизм инициации опухолевого роста [3].

Получая сигнал от лимфоцита, с помощью антител, взаимодействующих с Fc-рецепторами фагоцита, процесс окислительного стресса осуществляет антителозависимую цитотоксичность. Активация фагоцитов заключается в повышении проницаемости цитоплазматической мембраны и перестройке клеточного метаболизма, опосредованной повышением внутриклеточной концентрации ионов кальция, активированием аденилатциклазы и протеинкиназы C. В активированных фагоцитах

значительно усиливается окисление глюкозы по апотомическому пути (пентозофосфатный цикл) и резко (в десятки раз) усиливается потребление кислорода. Последнее обстоятельство, а также внезапность и скорость, с которой возникают и развиваются эти реакции, послужили основанием для того, чтобы назвать это явление «респираторным « взрывом – одним из универсальных проявлений реактивности фагоцитирующих клеток. Основным механизмом сводится к активации фагоцитов в результате контакта плазматической мембраны с опухолевой клеткой, что стимулирует активность цитоплазматического ферментного комплекса NADPH-оксидазы, который катализирует перенос электронов с NADPH на молекулярный кислород с образованием супероксидного анион-радикала [4].

NADPH-оксидаза представляет собой мультикомпонентную систему, состоящую из мембраносвязанных и цитозольных компонентов. В ее состав входят два интегральных мембранных белка, четыре цитозольных белка:  $p40^{\text{phox}}$ ,  $p47^{\text{phox}}$ ,  $p67^{\text{phox}}$  и гуанин-нуклеотидсвязывающий белок Rac2. Фермент локализован на мембране таким образом, что NADPH-связывающий центр направлен внутрь клетки, а супероксиданион-связывающий центр расположен на внешней стороне мембраны. В результате молекулярный кислород восстанавливается на внутренней поверхности мембраны, а супероксидный анион-радикал выделяется в среду окружающую фагоцит. Убыль NADPH по механизму обратной связи стимулирует пентозофосфатный цикл окисления глюкозы, восполняющий фонд НАДФН [5].

Сборка и активация комплекса NADPH оксидазы происходит следующим образом:

Стимуляция нейтрофила вызывает переход Rac в активную форму и фосфорилирование цитозольных компонентов  $p47^{\text{phox}}$  и  $p67^{\text{phox}}$ . Эти субъединицы транслоцируются к мембране и связываются с  $p22^{\text{phox}}$  и  $gp91^{\text{phox}}$ , что инициирует продукцию АФК.

Субъединицы  $p22^{\text{phox}}$  и  $gp91^{\text{phox}}$  образуют гетеродимерный флавопротеин, известный как цитохром  $b_{558}$ , который локализован в мембранах секреторных везикул и специфических гранул. Субъединица  $gp91^{\text{phox}}$  является гликозилированной р-субъединицей цитохрома  $b_{558}$ ,  $p22^{\text{phox}}$  -а-субъединицей. Стабильность каждой субъединицы флавоцитохрома b зависит от гетеродимерной формации таким образом, что мутации как  $gp91^{\text{phox}}$  так и  $p22^{\text{phox}}$  приводят к отсутствию обоих субъединиц на клеточной поверхности.

Цитохром  $fe_{558}$  содержит одну молекулу флавина и два гема, которые образуют электронно-транспортную цепь NADPH оксидазы. Экспериментально показано, что цитохром  $b_{558}$  способен генерировать  $O_2^-$  в отсутствии других компонентов NADPH оксидазы [5].

Белок  $gp91^{phox}$  рассматривается как член семейства NOX-белков, которые экспрессируются в нефагоцитирующих клетках, и имеют множество функций, не относящихся к антимикробной активности.

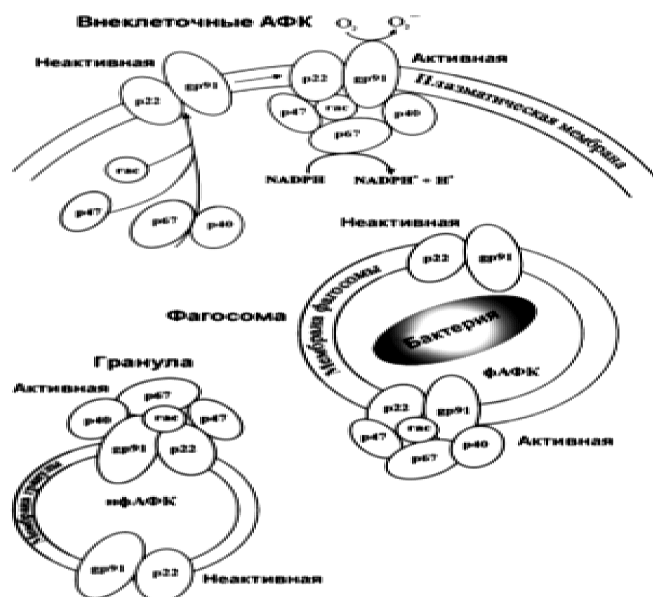
Цитозольный компонент  $p47^{phox}$  состоит из 390 аминокислот. Он содержит два SH3 мотива, один обогащенный пролином регион и один PX домен (плекстрин-гомологичный домен). PX-домен специфически взаимодействует с инозитолфосфатидами, в частности, с фосфатидилинозит-3,4-дифосфатом, что важно для удержания  $p47^{phox}$  в примембранной области. SH3 мотивы и обогащенный пролином домен также участвуют во взаимодействии с цитохромом  $b_{558}$  и  $p67^{phox}$ . Во время активации NADPH оксидазы  $p47^{phox}$  связывается с цитохромом  $b_{558}$ , обеспечивая транслокацию цитозольного комплекса  $p40^{phox} - p47^{phox} - p67^{phox}$  из цитозоля к мембране. Этот процесс не происходит без множественного фосфорилирования  $p47^{phox}$ . Показано, что  $p47^{phox}$  является наиболее фосфорилированной субъединицей NADPH оксидазы, имеющей 11 сайтов фосфорилирования. Известно, что  $p47^{phox}$  является субстратом ПКС, MAPKs, PKA, p21-активируемой киназы, ФИ-3-К для фосфорилирования *in vitro*. Ка-

кой из этих ферментов фосфорилирует *in vivo* и по какому сайту, остается неизвестным. Подобно  $p47^{phox}$ ,  $p22^{phox}$  и  $p67^{phox}$  также фосфорилируются при активации клетки, хотя функциональная значимость фосфорилирования не известна [6].

Субъединица  $p67^{phox}$  состоит из 526 аминокислот, содержит два SH3 домена: пролин-обогащенный и связывающий NADPH. Белок  $p67^{phox}$  тесно взаимодействует с цитоскелетом и фосфорилируется во время стимуляции нейтрофила, но в меньшей степени, чем  $p47^{phox}$ . Эта субъединица взаимодействует с Rac2 и с цитохромом  $b_{558}$  и регулирует каталитическую активность NADPH оксидазы через последовательность, называемую «активный домен» («Активный домен» (200–210 аминокислот) необходим для активации переноса электрона через флавоцитохром  $b_{558}$ ).

Субъединица  $p40^{phox}$  состоит из 339 аминокислот, содержит один SH3 домен и один PX домен. Белок слабо фосфорилируется при активации клетки и не является необходимым для сборки NADPH оксидазы. Функциональная роль белка  $p40^{phox}$  до конца не определена, в экспериментах *in vitro* было показано как и его стимулирующее, так и ингибирующее действие на NADPH оксидазу. PX домен специфично связывается с фосфатидилинозит-3-фосфатом, который накапливается в фагосомальных мембранах, что способствует удержанию NADPH оксидного комплекса в мембране.

Структура и сборка NADPH-оксидазы показана на рисунке.



Структура и сборка NADPH-оксидазы

Цитохром b, состоящий из субъединиц gp91phox (NOX2; ген CYBB) и p22phox (ген CYBA), расположен в цитоплазматической мембране и мембранах внутриклеточных гранул. После активации цитозольные компоненты p47phox (NOXO2; NCF1), p67phox (NOXA2; NCF2), p40phox (NCF4) и Rac2 (Rac2) транслоцируются к цитохрому b с образованием функциональной NADPH-оксидазы. При активации NADPH-оксидазы на плазматической мембране происходит образование внеклеточных АФК, а при активации ферментного комплекса на внутренних мембранах образуются внутриклеточные фагосомальные (фАФК) и нефагосомальные АФК (нфАФК), остающиеся внутри клетки. [7].

В настоящее время ведутся исследования, направленные на возможность использования в комплексной терапии онкологических заболеваний иммунокорректирующих препаратов, проявляющих антиокислительные свойства. Так, отмечены позитивные изменения в уровне АФК под действием соединений 3d-металлов с глюконовой кислотой, способствующих повышению активности антиоксидантных ферментов [8]. Показана взаимосвязь между показателями ПОЛ, окислительной модификации белка и развитием злокачественной опухоли у мышей с индуцированной миеломой [9].

### Список литературы

1. Segal A.W. How neutrophils kill microbes // *Annu. Rev. Immunol.* – 2005. – V. 23. – P. 197–223.
2. Anderson K.E., Boyle K.B., Davidson K. et al. cD18-dependent activation of the neutrophil NADPH oxidase during phagocytosis of *Escherichia coli* or *Staphylococcus aureus* is regulated by class III but not class I or II PI3ks // *Blood.* – 2008. – V. 112. – P. 5202–5211.
3. Князева О.А., Уразаева А.И. Влияние хронического стресса на развитие привитой миеломы Sp 2/0 Ag 14 у мышей BALB/c на фоне ингаляционного введения эфирных масел // *Здоровье и образование в XXI веке.* – 2016. – Т. 18, № 4. – С. 83–87.
4. Klebanoff S.J. Myeloperoxidase friend and foe // *J. Leukoc Biol.* – 2005. – V. 77. – P. 598–625.
5. Bokoch G.M., Zhao T. Regulation of the phagocyte NADPH oxidase by Rac GTPase. *Antioxid // Redox Signal.* – 2006. – V. 8. – P. 1533–1548.
6. Groemping Y., Rittinger K. Activation and assembly of the NADPH oxidase: a structural perspective // *Biochem. J.* – 2005. – V. 386. – P. 401–416.
7. Воробьева Н.В. NADPH-оксидаза нейтрофилов и заболевания, связанные с ее дисфункцией // *Иммунология.* – 2013. – № 4. – С. 227–232.
8. Князева О.А., Уразаева А.И., Киреева Е.А. Анализ взаимосвязей между показателями развития миеломы и нейроиммуноэндокринной системы у мышей после проведения аэрофитотерапии // *Современные проблемы науки и образования.* – 2018. – № 3; URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=27698> (дата обращения: 09.03.2019). DOI: 10.17513/spno.27698.
9. Князева О.А., Уразаева С.И., Конкина И.Г., Муринов Ю.И. Влияние глюконатов 3d-металлов на активность антиоксидантных ферментов и окислительные процессы in vivo при экспериментальном иммунодефиците // *Медицинский Вестник Башкортостана.* – 2018. – № 4. – С. 48–52.