

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ФЕРРОПТОЗА

Борисова Л.М., Голубева И.С., Киселева М.П.

(Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина, Москва, Россия)

Резюме. В настоящем обзоре обсуждаются молекулярные характеристики ферроптоза – железо-зависимой гибели клетки. Детально представлены вовлечение в ферроптоз RAS-RAF-MEK-ERK сигнального пути и потенциал-зависимых анионных каналов VDAC2 и VDAC3. Также обсуждаются индукторы ферроптоза I и II типа и другие сигнальные молекулы, участвующие в ферроптозе, в частности, HSF1-HSPB1, p53, CARS, NRF2.

Ключевые слова: ферроптоз; метаболизм железа; регуляторные пути; индукторы и ингибиторы ферроптоза.

MOLECULAR DETERMINANTS OF FERROPTOSIS

Borisova L.M., Golubeva I.S., Kiseleva M.P.

(N.N. Blokhin National Medical Research Oncology Center, Moscow, Russia)

Summary. In this review we discuss the current data on the molecular determinants of ferroptosis, an iron-dependent cell death. We focus on involvement of RAS-RAF-MEK-ERK signaling pathway and VDAC2 and VDAC3, voltage-dependent anion channels, in ferroptosis. Here we discuss in details the induction of type I ferroptosis induction, based on the inhibition of the Xc-system and type II ferroptosis induction based on the inhibition of GPx4. Information is given on other regulatory molecules, particularly, HSF1-HSPB1, p53, CARS, NRF2 and major inducers and inhibitors of ferroptosis.

Key words: ferroptosis; iron metabolism; regulatory pathways; inducers and inhibitors of ferroptosis.

Введение

Железо является основным микроэлементом в организме человека. Железо вовлекается в обеспечение клеток кислородом, связываясь с гемоглобином или миоглобином. Оно также участвует в биосинтезе ДНК и генерации аденозинтрифосфата в цикле Кребса. Кроме того, ионы железа задействованы в специализированных функциях нейронов и иммунной системы. Инактивация хотя бы одного из этих реакций останавливает процесс жизни. Железо, участвующее в этих процессах, находится в связанном с белками состоянии как кофактор. Присутствие железа в клетке в свободном, не связанном с белками или гемом состоянии в результате окисления Fe^{2+} в Fe^{3+} способствует накоплению активных форм кислорода (АФК) – реакция Фентона. Ввиду высокой химической активности АФК вызывают окисление практически любого вещества клетки: как наследственного аппарата или белков, так и липидов клетки [5,42].

Первое сообщение о ферроптозе, железо-зависимой программируемой гибели клетки, появилось в 2012 г. [8]. Была обнаружена гибель клетки, которая по морфологическим, биохимическим и генетическим особенностям отличалась от апоптоза, программируемой гибели клетки I типа и аутофагии, гибели клетки 2 типа [8,53]. Дальнейшие исследования выявили, что к ферроптозу оказались весьма чувствительны диффузная крупноклеточная В-лимфома, светлоклеточный рак почки, гепатоцеллюлярная карцинома, рак поджелудочной железы, рак шейки матки, рак предстательной железы, остеосаркома и рак яичника. В этих типах рака сочетание эрастина, индуктора ферроптоза, с цитотоксическими противоопухолевыми препаратами – темозоломидом, цисплатином, цитарабином, доксорубицином, адриамицином значительно уменьшало объем экспериментальной опухоли у животных [28].

С переходом опухоли в фазу метастатического роста цитотоксическая терапия, направленная на гибель пролиферирующих клеток по типу апоптоза или аутофагии, практически не работает [19,53]. Обнаружение факта, что индукторы ферроптоза вызывают гибель опухолевых клеток с высоко злокачественным фенотипом, значительно повышает актуальность исследований в области ферроптоза.

В данном обзоре обсуждаются молекулярные характеристики ферроптоза, а также индукторы и ингибиторы, участвующие в этом процессе.

1. Открытие ферроптоза

История изучения роли окислительного стресса в гибели клетки восходит еще к 1950-м годам, когда Н. Eagle с коллегами обосновали необходимость присутствия цистина (Cys₂), окисленной формы тиолсодержащей аминокислоты цистеина (Cys), для поддержания роста и размножения клеток млекопитающих в культуре [12,13]. Вслед за этими наблюдениями в 1977 году S. Bannai с соавторами обнаружили, что удаление из питательной среды Cys₂ приводило к гибели культивируемых фибробластов человека [2]. Клеточную гибель можно было предотвратить липофильным антиоксидантом, α-токоферолом, (витамина Е) [2]. Эти результаты указывали на то, что гибель клеток является следствием истощения среды цистеином, входящим, как известно, в состав трипептида GSH (с-L-глутамил-L-цистеинилглицин или глутатион). Глутатион сегодня рассматривается как эндогенный антиоксидант клетки. Последующие исследования подтвердили, что истощение питательной среды GSH приводит к гибели эмбриональных фибробластов человека, клеток нейрональной гибридомы и олигодендроцитов крысы. Эти результаты также выявили, что липофильные антиоксиданты блокируют гибель клетки [29,39,50].

В 2003 году S. Dolma с соавторами проводили масштабные эксперименты по скринингу 23550 соединений с целью выявления противоопухолевых агентов, которые способны вызывать гибель RAS-мутированных опухолевых клеток [11]. В результате скрининга такое соединение было найдено – «эрастин». В 2008 году B.R. Stockwell с коллегами обнаружили еще два соединения, RSL3 и RSL5 (RasSelectiveLethal), которые также избирательно убивали RAS-мутированные опухолевые клетки. Этой же группой авторов было показано, что гибель клеток можно ингибировать хелатором железа, десферриоксиамином В-метансульфонатом (DFOM) и антиоксидантом, витамином Е [49]. В совокупности эти исследования косвенно указывали на то, что GSH поддерживает жизнеспособность клетки, по всей видимости, предотвращая накопление АФК.

Несколько позднее, в той же лаборатории S.J. Dixon с коллегами показали, что гибель клетки, индуцируемая RSL3 и RSL5, по морфологическим признакам отличалась от апоптоза – конденсация ядра и фрагментация ДНК не наблюдались [8]. Вторым подтверждением неапоптотической гибели клетки явилась нечувствительность гибели клеток к пан-каспазному ингибитору апоптоза zVAD-fmk. На гибель опухолевых клеток

не оказывали влияния и ингибиторы аутофагии и некроза. Однако, дефероксамин (ДФО), хелатор железа, практически полностью блокировал гибель опухолевых клеток. Эрастин-индуцированная гибель клетки также блокировалась ингибированием поглощения железа клетками. Таким образом, к 2012 г. стало очевидным, что ключевым двигателем обнаруженной формы гибели клетки являются ионы железа. Именно по этой причине ферроптоз и получил свое название, как отдельная форма гибели клетки [8,49]. Более детальное исследование вопроса выявило, что АФК, играющие ведущую роль в запуске ферроптоза, образуются в ходе реакции Фентона, а не при работе митохондриальной электрон-транспортной цепи [42].

Как отмечалось выше, в ранних работах о клеточной гибели по типу ферроптоз было показано, что высокую чувствительность к ферроптозу проявляли опухолевые клетки с мутациями в генах семейства RAS, это предполагало, что для индукции ферроптоза необходим активный RAS-RAF-MEK-сигнальный путь. Впоследствии на 117 клеточных линиях было показано, что эрастин индуцирует ферроптоз независимо от того, выявлена ли в опухолевой клетке мутация в генах семейства RAS [46].

Для гибели клетки по типу ферроптоз характерны такие морфологические изменения, как сжатие клетки и уменьшение размеров митохондрий, уменьшение и даже исчезновение митохондриальных крист. Наблюдается также повышение плотности внутренних мембран митохондрий – «усыхание» митохондрий [16,22].

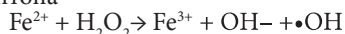
В настоящее время известны и другие химические соединения, способные индуцировать ферроптоз. В этот список входит как препарат, используемый в клинике – сорафениб [24], так и артемизинины [30] и недавно обнаруженный циклический пероксид 1,2-диоксолана (FINO2) [17]. Ферроптоз становится объектом изучения все более широкого круга исследователей.

2. Сигнальные молекулы, участвующие в индукции ферроптоза

2.1. Цитотоксичность, обусловленная перекисным окислением липидов

В регуляции метаболизма железа и окислительно-восстановительного дисбаланса при ферроптозе участвуют такие органеллы клетки, как митохондрии [16,22], эндоплазматический ретикулум [9], аппарат Гольджи [1] и лизосомы [38], что свидетельствует о комплексной сигнальной сети, контролирующей и обуславливающей этот тип клеточной гибели.

Как отмечалось ранее, в основе ферроптоза лежит реакция Фентона



Реакция Фентона сводится к следующему: избыток железа, не связавшийся с ферритином или феррипортином, генерирует гидроксилрадикал [8,42]. Концепция о том, что характерной особенностью ферроптоза является железо-зависимое перекисное окисление липидов, сегодня принята всеми. В результате перекисного окисления липидов повреждаются плазматическая мембрана и мембраны внутриклеточных органелл клетки. Основной биомембраны является фосфолипидный бислой, который состоит из амфолитных соединений с гидрофильными «полярными» головками и гидрофобными хвостами, состоящих из двух остатков жирных кислот – насыщенной и ненасыщенной [47]. Полиненасыщенные жирные кислоты (PUFA), содержащиеся в фосфолипидах (PUFA-PL), чаще всего представлены арахидоновой кислотой (AA) и ее предшественником – линоленовой кислотой, которые и являются основной мишенью перекисного окисления липидов при ферроптозе [47]. Следует отметить, что синглетный молекулярный кислород также способен вовлекаться в перекисное окисление липидов. В этом случае гидропероксиды липидов (LOOH) образуются из холестерина и этерифицированных липидов [18].

Перекисное окисление липидов при ферроптозе происходит как по неферментативной свободно-

радикальной цепной реакции (реакции Фентона), так и ферментативной – липоксигеназной реакции [33,42,47]. Липоксигеназы (LOX) играют ключевую роль в генерации гидроперекисей липидов из PUFA-PL [39,47]. LOX окисляют PUFA до их гидроперекисильных промежуточных соединений, включая 5-гидроксиэйкозатетраеновую кислоту (HETE). Липоксигеназы арахидоновой кислоты (ALOX) образуют семейство перекисных липидных ферментов, которые катализируют перекисное окисление арахидоновой кислоты и участвуют в различных типах гибели клеток [18,33,39]. В клетках человека в активации ферроптоза участвуют 6 видов липоксигеназ – ALOX5 (арахидонат 5-липоксигеназы), ALOX12 (арахидонат 12-липоксигеназы, тип 12S), ALOX12B (арахидонат 12-липоксигеназы, тип 12R), ALOX15 (арахидонат 15-липоксигеназы), тип ALOX15B и ALOXE3 (арахидонат-липоксигеназы 3) [18,33,47,48]. У мышей ALOX12 и ALOX15 не являются необходимыми ферментами для ферроптоза [15].

Гибель клетки по типу ферроптоз индуцируется двумя классами низкомолекулярных соединений: соединениями, снижающими уровень глутатиона в клетке, и блокаторами глутатионпероксидазы. Глутатион-зависимые ферменты присутствуют во всех частях клетки, включая ядро, митохондрии и эндоплазматическую сеть [9,16]. Глутатионпероксидаза катализирует восстановление перекисей липидов в соответствующие спирты, а также восстановление пероксида водорода до воды [21,47,48]. Инактивация глутатионпероксидазы 4 (GPX4) приводит к истощению арахидоновой кислоты (AA) и других PUFA, что сопровождается аккумулярованием в клетке АФК, которые запускают ферроптоз [21,48]. Следует отметить, что высвобождение медиаторов AA наблюдается при индукции ферроптоза (например, RSL3 или эрастином), но не при индукции апоптоза (например, TNF α - или стауропоорином) [5,15]. Таким образом, индукция ферроптоза находится в прямой зависимости от пула глутатиона – эндогенного антиоксиданта клетки.

2.2. Ингибирование системы Xc-Cys/Glu приводит к ферроптозу I типа

Система Xc-Cys/Glu представляет собой мембранный Na⁺-зависимый насос, который работает по схеме: внутриклеточный глутамат выводится во внеклеточное пространство, внеклеточный цистеин транспортируется в клетку и участвует в синтезе GSH [6]. К настоящему моменту установлено, что транспортер состоит из легкой (SLC7A11) и тяжелой цепей (CD98hc, SLC3A2) [6,31].

Эрастин и сульфасалазин (SAS) – индукторы ферроптоза, действуют как прямые ингибиторы системы Xc-Cys/Glu [8,9,26]. Оба индуктора, блокируя поглощенные внеклеточного цистеина, вызывают значительное истощение внутриклеточного GSH, что приводит к повышению уровня АФК. Было показано, что эрастин ингибирует функцию насоса посредством связывания с легкой цепью транспортера [8,9,25]. Вывод этот был подтвержден нокаутом гена и повышением экспрессии SLC7A11. Было показано, что подавление экспрессии SLC7A11 с помощью РНК-интерференции увеличивает противоопухолевую активность эрастина, тогда как повышение экспрессии SLC7A11 с помощью трансфекции уменьшает индуцированную эрастином гибель клетки [8]. Аналогичная закономерность наблюдалась и при активации белка-онкосупрессора p53. Активация p53 способствовала ингибированию экспрессии SLC7A11 [9]. Позднее эти результаты были подтверждены исследованиями с использованием ¹⁴C-меченого цистеина [9].

Необходимость истощения внутриклеточного пула GSH, как основная движущая сила запуска ферроптоза, была продемонстрирована также блокированием активности глутамат-цистеин лигаза (GCL), фермента, катализирующего синтез GSH в клетках, бутионинсульфоксимином (BSO) [6,9,48].

Интересно отметить, что истощение GSH в нормальных, не опухолевых клетках, ведет к различным расстройствам центральной нервной системы (ЦНС) [25].

Таким образом, подавление активности Xc-Cys/Glu насоса, который сегодня рассматривается как индукция ферроптоза I типа, базируется на снижении уровня GSH.

2.3. Прямое ингибирование GPx4 приводит к ферроптозу типа II

Глутатионпероксидазы – семейство ферментов, защищающих организм от повреждения АФК. Глутатионпероксидаза 4 (GPx4) существует в виде трех форм, синтезирующихся с одного и того же гена (цитозольная, митохондриальная и GPx4 ядерная форма клеток). Глутатионпероксидазы катализируют восстановление гидроперекисей липидов в соответствующие спирты. Реакция, катализируемая GPx4, сводится к следующему:



GPx4 далее восстанавливает дисульфид и завершает цикл:



Как следует из схемы, клетку GSH снабжает GPx4. Недостаток GSH, как отмечалось ранее, приводит к перекисному окислению липидов и индуцирует гибель клетки [21,33,48].

Недавно было показано, что низкомолекулярные индукторы ферроптоза, такие как RSL3, 1S, 3R-RSL3 [49], FIN56 и FINO2 ингибируют GPx4 [17,48]. В результате многочисленных экспериментов в ходе скрининга были обнаружены еще 12 индукторов ферроптоза, в том числе DPI7, DPI10, DPI13, DPI17, DPI18, DPI19, которые также напрямую подавляют активность GPx4 [11,41].

Подтверждением того, что активация пероксидазы необходима для запуска ферроптоза, явился нокаут гена *GPX4* в клетках фибробластов человека HT-1080. Фибробласты с нокаутом гена *GPX4* характеризовались высоким уровнем перекисей липидов. Массивную гибель клеток можно было предотвратить хелатором железа, DFOM, ингибитором MEK, U0126 антиоксидантом, витамином E [46,48]. Таким образом, в основе гибели клетки по типу ферроптоз лежит перекисное окисление липидов биомембран, строго зависящее от активности GPx4 [10,21,48]. По всей видимости, GPX4 является главным внутриклеточным ингибитором ферроптоза.

2.4. VDAC – мишени эрастина

К настоящему времени установлено, что ионы и небольшие молекулы, включая NADH и ATP, поступают из цитоплазмы в межмембранное пространство митохондрий через потенциал-зависимые анионные каналы (voltage-dependent anion channels, VDAC), образованные пороформирующими белками с молекулярной массой 30-35 кДа [7,27,46]. Размер образованных VDAC пор, если канал находится в открытом состоянии, достаточен для прохождения гидрофильных молекул субстратов окислительного фосфорилирования. Однако при некоторых условиях эти каналы могут закрываться. Закрытое состояние, в отличие от открытого состояния, характеризуется слабой катионной селективностью и пренебрежимо низкой проницаемостью для отрицательно заряженных метаболитов, таких как ATP. Изменение активности пориновых каналов может служить тем механизмом, который обеспечивает регуляцию обмена метаболитами между митохондриями и цитоплазмой. Результаты последних исследований показали, что VDAC2 и VDAC3 являются прямыми фармакологическими мишенями эрастина [27,46]. Эрастин связывается с VDAC2 и VDAC3 на митохондриальной наружной мембране, изменяет проницаемость мембран и замедляет окисление никотинамид-адениндинуклеотид-фосфата. Также эрастин изменяет селективность канала и позволяет перемещаться в митохондрии только катионам, тем самым вызывая дисфункцию

митохондрий и выброс АФК, что в конечном итоге и индуцирует ферроптоз. Морфологически это проявляется в уменьшении размера митохондрий, повышении плотности их мембран и потери структурной целостности [16,22,24].

Несколько недавних исследований подтверждают идею, что существует прямая связь между митохондриальной дисфункцией и индукцией ферроптоза. Было показано, что нокаут VDAC2 и VDAC3 (но не VDAC1) снижает действие эрастина в RAS-мутированных раковых клетках [7,27,46].

Митохондрии вносят существенный вклад в регуляцию метаболизма клеток. Митохондрии, не только удовлетворяют энергетические потребности клетки, но и участвуют в ряде других жизненно важных процессов, таких как ионный обмен, клеточный цикл, дифференцировка, программируемая гибель клеток. В целом, современное состояние литературы предполагает, что митохондриальная дисфункция является одной из ключевых модуляторов ферроптоза [16,46].

2.5. Вовлечение RAS-RAF-MEK-сигнального пути в ферроптоз

В ранних работах о клеточной гибели по типу ферроптоз было показано, что высокую чувствительность к ферроптозу проявляли опухолевые клетки с мутациями в генах семейства RAS. Позднее были получены экспериментальные подтверждения необходимости активного RAS-BRAF-MAP2K/MEK сигнального пути для индукции ферроптоза. Так, нокаут гена *BRAF* с использованием shRNA или ингибиторы митоген-активируемой протеинкиназы (MAPK) сигнального пути значительно снижали уровень перекисного окисления липидов и блокировали ферроптоз в опухолевых клетках [7,46,49]. Другим подтверждением гибели RAS-онкогенных мутантных опухолевых клеток активацией ферроптоза является обнаружение факта, что клетки с мутацией в RAS-онкогене характеризуются повышенной экспрессией CD71, рецептора трансферина и низким уровнем экспрессии ферритина, белка, депонирующего несвязанное железо. Оба белка, принимают активное участие в снабжении клетки железом [8,40].

Впоследствии были накоплены экспериментальные доказательства существования RAS-независимого ферроптоза. Например, препарат артесунат вызывал гибель клеток рака поджелудочной железы RAS-зависимым образом, тогда как гибель лейкозных клеток он вызывает RAS-независимым образом [14]. В некоторых случаях повышенная экспрессия RAS-белка способствует устойчивости к ферроптозу. Так, в клетках рабдомиосаркомы RMS13, характеризующихся гиперактивацией RAS, ни эрастин, ни RLS3 не вызывали гибель клеток [32]. С другой стороны, клеточные линии диффузной крупноклеточной В-лимфомы (DLBCL) и почечно-клеточного рака, которые обычно не содержат мутации в гене *RAS*, наиболее чувствительны к эрастину [7,15]. Также, эрастин-индуцированная гибель клеток наблюдалась при лейкемии и колоректальном раке [20,51]. В этих клетках мутация в гене *RAS* не обнаружена. Совершенно непонятным остается чувствительность нормальных, не опухолевых клеток, к ферроптозу. Было показано, что эрастин индуцирует гибель клеток почечных канальцев, Т-клеток и нормальных фибробластов [15]. И, подводя итоги, RAS-опосредованная сенсibilизация опухолевых клеток к эрастину и RSL3 зависит от разных факторов: от линии клеток или уровня экспрессии мутантного белка RAS. В заключение хотелось бы отметить, что идентификация биомаркеров, которые будут определять чувствительность или устойчивость к ферроптозу, является крайне актуальным [52].

2.6. Другие регуляторные молекулы ферроптоза

HSP1-HSPB1. Белки теплового шока (HSP) обнаружены в клетках практически всех живых организмов – от бактерий до человека. Активация экспрессии HSP происходит при инфекциях, воспалительных процессах, внешних воздействиях токсинов (этанол, мышьяк,

тяжелые металлы), при ультрафиолетовом облучении, голодании, гипоксии. HSP играют важную роль при фолдинге и сборке сложных белков, препятствуя их нежелательной агрегации [37]. Следует отметить, что экспрессия HSP значительно повышена в опухолевых клетках, эти белки необходимы для их выживания. Экспрессия HSP находится под контролем HSF1, фактора транскрипции теплового шока 1. Было показано, что снижение уровня HSPB1, белка семейства низкомолекулярных HSP, увеличивает концентрацию железа и уровень АФК в клетках и подавляет рост опухоли [54], а фосфорилирование HSPB1 PKC (протеинкиназой С) предотвращает ферроптоз в опухолевых клетках. Этой же группой авторов также было показано, что фосфорилированный HSPB1 блокирует доступность железа и последующее перекисное окисление липидов.

Недавно было продемонстрировано, что HSP70 (морталин), основной белок-шаперон эндоплазматического ретикула, повышает стабилизацию белка GPx4, тем самым ингибируя ферроптоз в клетках рака поджелудочной железы человека [54]. С другой стороны, HSP90-опосредованная аутофагия индуцировала ферроптоз в нервных клетках [43]. Несмотря на скудность данных о роли HSP в активации ферроптоза, намечается тенденция активного вовлечения этих белков в процесс железо-зависимой гибели клетки.

p53. Белок p53, онкосупрессор, кодируемый геном *TP53*, экспрессируется во всех клетках организма. При отсутствии повреждений генетического аппарата белок p53 находится в неактивном состоянии и активируется при появлении повреждений ДНК. Активация состоит в приобретении способности p53 связываться с ДНК и активировать транскрипцию ряда генов. При сильном стрессовом сигнале активируется экспрессия проапоптотических генов и запускается апоптоз. В число генов, экспрессия которых находится под контролем p53, также входит ряд антиоксидантных генов, подавляющих накопление АФК [4,19,23]. Недавно было показано, что активация p53 подавляет экспрессию SLC7A11, легкой субъединицы системного Xc-транспортера и индуцирует ферроптоз в опухолевых клетках [9].

Ген *TP53* мутирован в 50% опухолевых клеток, во второй половине опухолевых клеток он делетирован. Существует множество различных мутаций, которые снижают опухоле-супрессорную активность этого гена. Было показано, что устойчивый к ацетилированию мутированный *TP53/3KR* (K117,161,162R) ингибирует рост опухоли не индукцией апоптоза или остановкой клеточного цикла, а индукцией ферроптоза [23,36].

CARS. Цистеинил-тPHK-синтетаза (CARS) при дефиците цистеина пополняет запас клетки серо-содержащей аминокислотой и повышает чувствительность к эрастину в некоторых типах опухолевых клеток. Нокдаун CARS приводит к истощению клетки GSH и ингибированию эрастин-индуцированного ферроптоза [36].

NRF2. NRF2 – транскрипционный фактор, под контролем которого находится транскрипция генов, кодирующих антиоксидантные белки. К таким белкам относятся хинон-оксидоредуктаза 1, гем-оксигеназа-1 (HO-1) и белки, вовлеченные в метаболизм железа (например, FTH1) [8,49]. Показано, что активация NRF2 предотвращает гибель клетки по типу ферроптоза. Также показано, что эрастин, сорафениб и BSO (бутионинсульфоксимин) блокируют экспрессию ядерного фактора транскрипции и индуцируют ферроптоз в опухолевых клетках [21,36].

NOX. Семейство белков NOX (NADPH-оксидазы) участвует в переносе электронов через биологические мембраны. Классические ингибиторы NOX, дифенилениодоний и NOX1-/4-специфический ингибитор – GKT137831 частично ингибируют эрастин-индуцированный ферроптоз в клетках Calu-1 и HT1080 [8].

2.7. Индукторы и ингибиторы ферроптоза

В настоящее время идентифицирован ряд индук-

торов ферроптоза. Это соединения, снижающие уровень GSH путем непосредственного ингибирования активности Xc-системы или γ -глутамилцистеинлигазы (эрастин, препараты сорафениб, сульфасалазин), ингибиторы GPx4 (RSL3, DPI10, DPI17) и соединения, истощающие запасы GPX (FIN56, FINO2) [17,21,24,30,41]. Ингибиторы ферроптоза также были идентифицированы. В основном это хелаторы железа (ферростатин, дефероксамин, деферасирокс, липроксстатин-1, тетрагидронаптиридины, циклопироксоламин) и соединения, снижающие уровень АФК в клетке (витамин E, N-ацетил-цистеин, глутатион) [34,44,49]. Также к этой группе соединений относятся ингибиторы перекисного окисления (зилеутон, PD146176 и др.) [44]. И если индукцию ферроптоза можно рассматривать как потенциальное противоопухолевое воздействие, то блокаторы ферроптоза, по всей видимости, будут востребованы для минимизации повреждений, вызванных ишемической болезнью, и для купирования нейродегенеративных заболеваний. Дальнейшие исследования молекулярных механизмов индукции ферроптоза в опухолевых клетках позволят идентифицировать новые мишени, воздействия на которые позволят повысить эффективность противоопухолевой терапии.

Выбор адекватных моделей опухолевого роста у животных для оценки новых агентов – индукторов ферроптоза, является очень важным аспектом в исследовании противоопухолевой терапии на основе железа. Сегодня достоверно обоснована возможность изучения влияния различных низкомолекулярных соединений, индуцирующих ферроптоз, на рост экспериментальной опухоли с использованием подкожных ксенографтов рака толстой кишки человека HCT116, рака яичника человека HGSOC и ортотопически перевитой опухоли рака поджелудочной железы KPC, генерированной в поджелудочной железе мыши [3,35,45]. По всей видимости, дальнейшие исследования расширят наши возможности исследования роли ферроптоза на рост экспериментальной опухоли у животных.

Заключение

Химиотерапия является основным, а при некоторых формах и стадиях распространения злокачественной опухоли – единственным методом лечения онкологических больных. С переходом опухоли в фазу метастатического роста цитотоксическая терапия, направленная на гибель пролиферирующих клеток по типу апоптоза или аутофагии, практически не работает. Наиболее серьезным препятствием к повышению эффективности химиотерапии опухолей по-прежнему остается фенотип их множественной лекарственной устойчивости. Ферроптоз, как программируемая гибель клетки, был открыт совсем недавно. Индукторы ферроптоза – это не просто соединения, вызывающие массивное окисление биомолекул клетки, как это делает, например, H_2O_2 . Эрастин и другие индукторы ферроптоза не содержат остатки химических групп с редокс-активностью. В то же время ингибиторы ферроптоза блокируют летальность эрастина или RSL3, но не образование АФК в целом.

В онкологической практике нет препарата, индуцирующего ферроптоз в опухолях. Доклинические исследования также не зарегистрированы. Комбинирование эрастина с цитотоксическими препаратами, такими как цисплатин, темозоломид, доксорубин и citarabin, в исследованиях показало эффективные результаты роли ферроптозов в ингибировании роста экспериментальной опухоли у животных. Другим исследованием, вселяющим надежду, явились опубликованные недавно данные о гибели резистентных к терапии опухолевых клеток активацией ферроптоза. Сегодня с железо-зависимой клеточной гибелью связывают большие надежды в повышении эффективности терапии опухолей.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Прозрачность исследования. Исследование не имело спонсорской поддержки. Исследователи несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

Декларация о финансовых и иных взаимодействиях.

яж. Все авторы принимали участие в разработке концепции и дизайна исследования и в написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами. Авторы не получали гонорар за исследование.

Работа поступила в редакцию: 23.04.2019 г.

ЛИТЕРАТУРА – REFERENCES

1. Alborzina H., Ignashkova T.I., Dejure F.R., et al. Golgi stress mediates redox imbalance and ferroptosis in human cells // *Commun. Biol.* 2018. Vol. 28. №1. P.210. DOI: 10.1038/s42003-018-0212-6.
2. Bannai S., Tsukeda H., Okumura H. Effect of antioxidants on cultured human diploid fibroblasts exposed to cystine-free medium // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1977. Vol. 74. №4. P.1582-1588. DOI:10.1016/0006-291x(77)90623-4
3. Basuli D., Tesfay L., Deng Z., et al. Iron addiction: A novel therapeutic target in ovarian cancer // *Oncogene.* 2017. Vol. 36. №29. P.4089-4099. DOI:10.1038/onc.2017.11
4. Bieganski K.T., Mello S.S., Attardi L.D. Unravelling mechanisms of p53-mediated tumour suppression // *Nat. Rev. Cancer.* 2014. Vol. 14. P.359-370. DOI:10.1038/nrc3711
5. Bogdan A.R., Miyazawa M., Hashimoto K., et al. Regulators of iron homeostasis: new players in metabolism, cell death, and disease // *Trends Biochem. Sci.* 2016. Vol. 41. №3. P.274-286. DOI: 10.1016/j.tibs.2015.11.012.
6. Bridges R.J., Natale N.R., Patel S.A. System xc⁻ cystine/glutamate antiporter: an update on molecular pharmacology and roles within the CNS // *Br. J. Pharmacol.* 2012. Vol. 165. №1. P.20-34. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2011.01480.x.
7. Cao J.Y., Dixon S.J. Mechanisms of ferroptosis // *Cell Mol. Life Sci.* 2016. Vol. 73. №11-12. P.2195-209. DOI: 10.1007/s00018-016-2194-1.
8. Dixon S.J., Lemberg K.M., Lamprecht M.R., et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death // *Cell.* 2012. Vol. 149. №5. P.1060-1072. DOI:10.1016/j.cell.2012.03.042
9. Dixon S.J., Patel D.N., Welsch M., et al. Pharmacological inhibition of cystine-glutamate exchange induces endoplasmic reticulum stress and ferroptosis // *Elife.* 2014. Vol. 3. e02523. DOI:10.7554/eLife.02523
10. Dixon S.J., Stockwell B.R. The role of iron and reactive oxygen species in cell death // *Nat. Chem. Biol.* 2014. Vol. 10. №1. P.9-17. DOI: 10.1038/nchembio.1416.
11. Dolma S., Lessnick S.L., Hahn W.C., Stockwell B.R. Identification of genotype-selective antitumor agents using synthetic lethal chemical screening in engineered human tumor cells // *Cancer Cell.* 2003. Vol. 3. №3. P.285-296. PMID: 12676586
12. Eagle H. Nutrition needs of mammalian cells in tissue culture // *Science.* 1955. Vol. 122. P.501-514. DOI: 10.1126/science.122.3168.501
13. Eagle H., Piez K.A., Oyama V.I. The biosynthesis of cysteine in human cell cultures // *J. Biol. Chem.* 1961. Vol. 236. P.1425-1428. PMID: 13725478
14. Eling N., Reuter L., John H., et al. Identification of artesunate as a specific activator of ferroptosis in pancreatic cancer cells // *Oncoscience.* 2015. Vol. 2. №5. P.517-532. DOI:10.18632/oncoscience.160
15. Friedmann A.J.P., Schneider M., Proneth B., et al. Inactivation of the ferroptosis regulator Gpx4 triggers acute renal failure in mice // *Nat. Cell Biol.* 2014. Vol. 16. №12. P.1180-1191. DOI: 10.1038/ncb3064.
16. Gao M., Yi J., Zhu J., et al. Role of mitochondria in Ferroptosis // *Mol. Cell.* 2019. Vol. 73. №2. P.354-363.e3. DOI: 10.1016/j.molcel.2018.10.042
17. Gaschler M.M., Andia A.A., Liu H., et al. FINO2 initiates ferroptosis through GPX4 inactivation and iron oxidation // *Nat. Chem. Biol.* 2018. Vol. 14. №5. P.507-515. DOI: 10.1038/s41589-018-0031-6.
18. Hauck A.K., Bernlohr D.A. Oxidative stress and lipotoxicity // *J. Lipid. Res.* 2016. Vol. 57. №11. P.1976-1986. DOI: 10.1194/jlr.R066597
19. Hong S.H., Lee D.H., Lee Y.S., et al. Molecular crosstalk between ferroptosis and apoptosis: emerging role of ER stress-induced p53-independent PUMA expression // *Oncotarget.* 2017. Vol. 8. №70. P.115164-115178. DOI: 10.18632/oncotarget.23046.
20. Huo H., Zhou Z., Qin J., et al. Erastin disrupts mitochondrial permeability transition pore (mPTP) and induces apoptotic death of colorectal cancer cells // *PLoS One.* 2016. Vol. 11. №5. P.e0154605. DOI: 10.1371/journal.pone.0154605
21. Imai H., Matsuoka M., Kumagai T., et al. Lipid peroxidation-dependent cell death regulated by GPx4 and ferroptosis // *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2017. Vol. 403. P.143-170. DOI: 10.1007/82_2016_508
22. Jelinek A., Heyder L., Daude M., et al. Mitochondrial rescue prevents glutathione peroxidase-dependent ferroptosis // *Free Radic. Biol. Med.* 2018. Vol. 117. P.45-57. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.01.019.
23. Jiang L., Kon N., Li T., et al. Ferroptosis as a p53-mediated activity during tumour suppression // *Nature.* 2015. Vol. 520. P.57-62. DOI:10.1038/nature14344
24. Lachiaer E., Louandre C., Godin C., et al. Sorafenib induces ferroptosis in human cancer cell lines originating from different solid tumors // *Anticancer Res.* 2014. Vol. 34. P.6417-6422. PMID: 25368241
25. Lewerenz J., Hewett S.J., Huang Y., et al. The cystine/glutamate antiporter system xc⁻ in health and disease: from molecular mechanisms to novel therapeutic opportunities // *Antioxid. Redox Signal.* 2013. Vol. 18. №5. P.522-555. DOI: 10.1089/ars.2011.4391
26. Lo M., Ling V., Wang Y.Z., et al. The xc⁻ cystine/glutamate antiporter: a mediator of pancreatic cancer growth with a role in drug resistance // *Br. J. Cancer.* 2008. Vol. 99. P.464-472. DOI:10.1038/sj.bjc.6604485
27. Maldonado E.N., Sheldon K.L., DeHart D.N., et al. Voltage-dependent anion channels modulate mitochondrial metabolism in cancer cells: regulation by free tubulin and erastin // *J. Biol. Chem.* 2013. Vol. 288. P.11920-11929. DOI: 10.1074/jbc.M112.433847
28. Mou Y., Wang J., Wu J., et al. Ferroptosis, a new form of cell death: opportunities and challenges in cancer // *Journal of Hematology & Oncology.* 2019. Vol. 12. №34. DOI: 10.1186/s13045-019-0720-y
29. Murphy T.H., Miyamoto M., Sastre A., et al. Glutamate toxicity in a neuronal cell line involves inhibition of cysteine transport leading to oxidative stress // *Neuron.* 1989. Vol. 2. P.1547-1558. DOI: 10.1016/0896-6273(89)90043-3
30. Ooko E., Saeed M.E., Kadioglu O., et al. Artemisinin derivatives induce iron-dependent cell death (ferroptosis) in tumor cells // *Phytomedicine.* 2015. Vol. 22. №11. P.1045-54. DOI: 10.1016/j.phymed.2015.08.002.
31. Sato H., Tamba M., Ishii T., et al. Cloning and expression of a plasma membrane cystine/glutamate exchange transporter composed of two distinct proteins // *J. Biol. Chem.* 1999. Vol. 274. P.11455-11458. DOI: 10.1074/jbc.274.17.11455
32. Schott C., Graab U., Cuvelier N., et al. Artemisinin RAS mutants confer resistance of RMS13 rhabdomyosarcoma cells to oxidative stress-induced ferroptotic cell death // *Front. Oncol.* 2015. Vol. 5. №131. DOI: 10.3389/fonc.2015.00131
33. Shah R., Shchepinov M.S., Pratt D.A. Resolving the role of Lipoxygenases in the initiation and execution of ferroptosis // *ACS Cent. Sci.* 2018. Vol. 4. №3. P.387-396. DOI: 10.1021/acscentsci.7b00589
34. Skouta R., Dixon S.J., Wang J., et al. Ferrostatins inhibit oxidative lipid damage and cell death in diverse disease models // *J. Am. Chem. Soc.* 2014. Vol. 136. P.4551-4556. DOI: 10.1021/ja411006a
35. Song X., Zhu S., Chen P., et al. AMPK-mediated BECN1 phosphorylation promotes ferroptosis by directly blocking system xc⁻ activity // *Curr. Biol.* 2018. Vol. 28. №15. P.2388-2399 e5. DOI:10.1016/j.cub.2018.05.094.
36. Sun X., Ou Z., Chen R., et al. Activation of the p62-Keap1-NRF2 pathway protects against ferroptosis in hepatocellular carcinoma cells // *Hepatology.* 2016. Vol. 63. №1. P.173-184. DOI: 10.1002/hep.28251
37. Sun X., Ou Z., Xie M., et al. HSPB1 as a novel regulator of ferroptotic cancer cell death // *Oncogene.* 2015. Vol. 34. №45. P.5617-5625. DOI: 10.1038/onc.2015.32
38. Torii S., Shintoku R., Kubota C., et al. An essential role for

- functional lysosomes in ferroptosis of cancer cells // *Biochem. J.* 2016. Vol. 473. №6. P.769-77. DOI: 10.1042/BJ20150658.
39. Wang H., Li J., Follett P.L., et al. 12-Lipoxygenase plays a key role in cell death caused by glutathione depletion and arachidonic acid in rat oligodendrocytes // *Eur J Neurosci.* 2004. Vol. 20. P.2049-2058. DOI:10.1111/j.1460-9568.2004.03650.x
40. Wang Y.Q., Chang S.Y., Wu Q., et al. The protective role of mitochondrial ferritin on erastin-induced ferroptosis // *Front. Aging Neurosci.* 2016. Vol. 8. №308. DOI: 10.3389/fnagi.2016.00308
41. Weiwer M., Bittker J.A., Lewis T.A., et al. Development of small-molecule probes that selectively kill cells induced to express mutant RAS // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2012. Vol. 22. P.1822-1826. DOI: 10.1016/j.bmcl.2011.09.047
42. Winterbourn C.C. Toxicity of iron and hydrogen peroxide: the Fenton reaction // *Toxicol. Lett.* 1995. Vol. 82-83. P.969-974. DOI: 10.1016/0378-4274(95)03532-x
43. Wu Z., Geng Y., Lu X., Shi Y., et al. Chaperone-mediated autophagy is involved in the execution of ferroptosis // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2019. Vol. 116. №8. P.2996-3005. DOI: 10.1073/pnas.1819728116
44. Xie Y., Hou, Song W., et al. Ferroptosis: Process and function // *Cell Death and Differentiation.* 2016. Vol. 23. №3. P.369-379. DOI: 10.1038/cdd.2015.158
45. Xie Y., Zhu S., Song X., et al. The Tumor Suppressor p53 Limits Ferroptosis by Blocking DPP4 Activity // *Cell Reports.* 2017. Vol. 20. №7. P.1692-1704. DOI: 10.1016/j.celrep.2017.07.055
46. Yagoda N., M. von Rechenberg, Zaganjor E., et al. RAS-RAF-MEK-dependent oxidative cell death involving voltage-dependent anion channels // *Nature.* 2007. Vol. 447. P.864-868. DOI: 10.1038/nature05859
47. Yang W.S., Kim K.J., Gaschler M.M., et al. Peroxidation of polyunsaturated fatty acids by lipoxygenases drives ferroptosis // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2016. Vol. 113. №34. P.E4966-75. DOI: 10.1073/pnas.1603244113.
48. Yang W.S., SriRamaratnam R., Welsch M.E. et al. Regulation of ferroptotic cancer cell death by GPX4 // *Cell.* 2014. Vol. 156. P.317-331. DOI:10.1016/j.cell.2013.12.010
49. Yang W.S., Stockwell B.R. Synthetic lethal screening identifies compounds activating iron-dependent, nonapoptotic cell death in oncogenic-RAS-harboring cancer cells // *J Chem Biol.* 2008. Vol. 15. №3. P.234-245. DOI: 10.1016/j.chembiol.2008.02.010.
50. Yonezawa M., Back S.A., Gan X., et al. Cystine deprivation induces oligodendroglial death: rescue by free radical scavengers and by a diffusible glial factor // *J Neurochem.* 1996. Vol. 67. P.566-573. DOI: 10.1046/j.1471-4159.1996.67020566.x
51. Yu Y., Xie Y., Cao L., et al. The ferroptosis inducer erastin enhances sensitivity of acute myeloid leukemia cells to chemotherapeutic agents // *Mol. Cell. Oncol.* 2015. Vol. 2. №4. P.e1054549. DOI: 10.1080/23723556.2015.1054549
52. Yuan H., Li X., Zhang X., et al. Identification of ACSL4 as a biomarker and contributor of ferroptosis. *Biochem. Biophys J Res. Commun.* 2016. Vol. 478. №3. P.1338-1343. DOI: 10.1016/j.bbrc.2016.08.124.
53. Zaffagnini G., Martens S. Mechanisms of selective autophagy // *J. Mol. Biol.* 2016. Vol. 428. №9. Pt A. P.1714-1724. DOI: 10.1016/j.jmb.2016.02.004
54. Zhu S., Zhang Q., Sun X., et al. HSPA5 regulates ferroptotic cell death in Cancer cells // *Cancer Res.* 2017. Vol. 77. №8. P.2064-2077. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-16-1979

Информация об авторах:

Борисова Лариса Михайловна – к.биол.н., и.о. заведующего лабораторией экспериментальной химиотерапии НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей (НИИ ЭДиТО) ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, SPIN-code: 7942-7639, ORCID: 0000-0001-6554-1949, адрес: 115478, Москва, Каширское шоссе, 24, тел. 8(909)6301685; e-mail: larib@inbox.ru; Голубева Ирина Сергеевна – к.биол.н., ведущий научный сотрудник лаборатории экспериментальной химиотерапии НИИ ЭДиТО ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, AuthorID: 134145, ORCID: 0000-0002-7263-7444 адрес: 115478, Москва, Каширское шоссе, 24, тел. 8(903)5939562, e-mail: irinagolubewa52@mail.ru; Киселева Марина Петровна – научный сотрудник лаборатории экспериментальной химиотерапии НИИ ЭДиТО ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, AuthorID: 607527, ORCID: 0000-0002-4309-6722, адрес: 115478, Москва, Каширское шоссе, 24, тел. 8(903)2134562, e-mail: marina-kiselyova@mail.ru.

Information About the Authors:

Borisova Larisa Mikhailovna – PhD, Head of the Laboratory of Experimental Chemotherapy, Research Institute of Experimental Diagnostic and Therapy of Tumors, FSBI “N.N. Blokhin National Medical Research Oncology Center” of the Ministry of Health of Russia; SPIN-code: 7942-7639, ORCID: 0000-0001-6554-1949, Address: Kashirskoyeshosse, 24, Moscow, Russia, 115478; tel. 8(909)6301685; e-mail: larib@inbox.ru; Golubeva Irina Sergeevna – PhD, Leading Researcher of the Laboratory of Experimental Chemotherapy, Research Institute of Experimental Diagnostic and Therapy of Tumors, FSBI “N.N. Blokhin National Medical Research Oncology Center” of the Ministry of Health of Russia; AuthorID: 134145, ORCID: 0000-0002-7263-7444, Address: Kashirskoyeshosse, 24, Moscow, Russia, 115478, tel. 8(903)5939562, e-mail: irinagolubewa52@mail.ru; Kiseleva Marina Petrovna – Researcher of the Laboratory of Experimental Chemotherapy, Research Institute of Experimental Diagnostic and Therapy of Tumors, FSBI “N.N. Blokhin National Medical Research Oncology Center” of the Ministry of Health of Russia; AuthorID: 607527, ORCID: 0000-0002-4309-6722, Address: Kashirskoyeshosse, 24, Moscow, Russia, 115478, tel. 8(903)2134562, e-mail: marina-kiselyova@mail.ru