

ВЛИЯНИЕ ОКСИДА АЗОТА НА КАНЦЕРОГЕНЕЗ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ. ОБЗОР

¹Алтайский государственный медицинский университет, Барнаул, Россия

²Алматинская региональная многопрофильная клиника, Алматы, Казахстан

Цеймах А.Е.¹, Олжаев С.Т.², Лазарев А.Ф.¹, Шойхет Я.Н.¹

Резюме: Оксид азота (NO), продуцируемый ферментами семейства синтазы оксида азота (NOS), является молекулой свободного радикала с коротким периодом полувыведения менее 2 с в водной среде. Особенностью данного эндогенного медиатора является то, что он оказывает различные, часто противоположные локальные эффекты. Известно, что NO в равновесном состоянии от низкого до среднего (до ~0,2 мкм) играет важную роль в выживании, пролиферации, инвазии и лекарственной устойчивости многих типов раковых клеток. Напротив, оксид азота, генерируемый в относительно высоких количествах (1 мкм или выше), например, активированными макрофагами во время воспаления, обычно является цитотоксическим, особенно после реакции с супероксидным радикалом (O₂⁻) с образованием сильного окислителя пероксинитрита (ONOO⁻). Ключевой особенностью влияния оксида азота на канцерогенез является зависимость от концентрации и точки применения.

Фотодинамическая терапия (ФДТ) – это метод лечения, при котором используются лекарственные средства или красители, фотосенсибилизаторы, нетоксичные, являющиеся фармакологически активными только под воздействием света в присутствии кислорода. Благодаря избирательности и специфичности, ФДТ считается возможным методом лечения для новообразований, включая раковые заболевания кожи, головы и шеи, носоглотки, пищевода, легких, поджелудочной железы, билиарного рака и мочевого пузыря.

При любом виде механизма клеточной смерти при ФДТ кислород имеет решающее значение для производства реактогенных молекул во время процедуры. Концентрация кислорода может значительно различаться между разными опухолями и даже между разными участками одной и той же опухоли, в зависимости от плотности сосудистой сети. Недостаток кислорода может быть ограничивающим фактором, особенно в более глубоких солидных опухолях, часто характеризующихся анаэробным микроокружением.

Двухфазный механизм эффектов оксида азота был использован на моделях опухолевого роста для замедления прогрессирования новообразования и повышения эффективности как химиотерапии, так и лучевой терапии. Исследователи используют различные стратегии воздействия *in vivo* – внутриопухолевый синтез и экзогенную доставку этой молекулы, включая генную терапию nNOS, индукцию iNOS и введение препаратов-донаторов NO. При этом важнейшим условием успешности фототоксического эффекта является блокирование продукции эндогенного оксида азота после ФДТ.

Применение препаратов-донаторов оксида азота высокодозными курсами до процедуры фотодинамической терапии в сочетании с применением ингибитора iNOS после ФДТ позволяет значительно потенцировать эффект от ФДТ на всех стадиях злокачественного новообразования, и является перспективным и высоко безопасным методом лечения злокачественных новообразований.

Ключевые слова: канцерогенез, фотодинамическая терапия, оксид азота.

INFLUENCE OF NITRIC OXIDE ON CARCINOGENESIS DURING PHOTODYNAMIC THERAPY. REVIEW

¹Altai State Medical University, Barnaul, Russia

²Almaty Regional Multidisciplinary Clinic, Almaty, Kazakhstan

Tseimakh A.E.¹, Olzhayev S.T.², Lazarev A.F.¹, Shoykhet Ia.N.¹

Nitric oxide (NO), produced by enzymes of the nitric oxide synthase (NOS) family, is a free radical molecule with a short half-life of less than 2 s in an aqueous environment. A feature of this endogenous mediator is that it has various, often opposite, local effects. NO plays an important role in the survival, proliferation, invasion, and drug resistance of many types of cancer cells in an equilibrium state low to medium (up to ~0.2 μm). On the contrary, nitric oxide generated in relatively high amounts (1 μm or greater), for example, by activated macrophages during inflammation, is generally cytotoxic, especially after reacting with the superoxide radical (O₂⁻) to form the strong oxidizing agent peroxynitrite (ONOO⁻). A key feature of the effect of nitric oxide on carcinogenesis is its dependence on concentration and point of application.

Photodynamic therapy (PDT) is a treatment method that uses drugs or dyes, photosensitizers, and non-toxic drugs, which are pharmacologically active only when exposed to light in the presence of oxygen. Due to its selectivity and specificity, PDT is considered a possible treatment for neoplasms, including cancers of the skin, head and neck, nasopharynx, esophagus, lung, pancreas, biliary cancer, and bladder.

In any kind of cell death mechanism in PDT, oxygen is critical to the production of reactogenic molecules during the procedure. Oxygen concentration can vary significantly between different tumors and even between different sites of the same tumor, depending on the density of the vasculature. The lack of oxygen can be a limiting factor, especially in deeper solid tumors often characterized by an anaerobic microenvironment.

The biphasic mechanism of the effects of nitric oxide has been used in models of tumor growth models to slow tumor progression and increase the effectiveness of chemotherapy and radiotherapy. Researchers are using various in vivo strategies for intratumoral synthesis and exogenous delivery of this molecule, including nNOS gene therapy, induction of iNOS, and administration of NO donor drugs. Simultaneously, the most important condition for the success of the phototoxic effect is blocking the production of endogenous nitric oxide after PDT.

The use of nitric oxide donor preparations in high-dose courses prior to the photodynamic therapy procedure, along with the use of an iNOS inhibitor after PDT, can significantly potentiate the effect of PDT at all stages of a malignant neoplasm, and is a promising and highly safe method for treating malignant neoplasms.

Keywords: *carcinogenesis, photodynamic therapy, nitrogen oxide.*

Оксид азота (NO), продуцируемый ферментами семейства синтазы оксида азота (NOS), является молекулой свободного радикала с коротким периодом полувыведения менее 2 с в водной среде. Особенностью данного эндогенного медиатора является то, что он оказывает различные, часто противоположные локальные эффекты [1, 2, 3, 4]. Известно, что NO в равновесном состоянии от низкого до среднего (до ~0,2 мкМ) играет важную роль в выживании, пролиферации, инвазии и лекарственной устойчивости многих типов раковых клеток [1, 2, 3, 4]. Напротив, оксид азота, генерируемый в относительно высоких количествах (1 мкМ или выше), например, активированными макрофагами во время воспаления, обычно является цитотоксическим, особенно после реакции с супероксидным радикалом (O_2^-) с образованием сильного окислителя пероксинитрита (ONOO-) [1, 2, 3, 4]. Ключевой особенностью влияния оксида азота на канцерогенез является зависимость от концентрации и точки применения.

Механизмы действия оксида азота при канцерогенезе

Спектр влияний NO на патогенез развития злокачественных новообразований включает в себя участие в клеточной трансформации, формировании неопластических процессов, иницировании и регуляции метастатического каскада, иммунном ответе, непрямом и прямом цитотоксическим, а также цитостатическом действии на раковые клетки [5, 6].

В низких концентрациях NO действует как преобразователь сигнала и влияет на многие физиологические процессы, включая регуляцию кровотока, гомеостаз железа и нейротрансмиссию, тогда как в высоких концентрациях он оказывает цитотоксическое защитное действие, т.е. против патогенов и, возможно, опухолей. Другими системами организма, на которые влияет NO, являются дыхание, сердечно-со-

судистая система, заживление ран и нервная система. Наблюдения показывают, что нейротрансмиттерные ответы опосредованы зависимой от L-аргинина генерацией NO в нейронах, а некоторые нейроны зависят от NO для передачи сигнала [7, 8]. NO экспрессируется по всему мозгу и участвует во многих функциях мозга, включая восприятие боли, память, расслабление тощей кишки, толстой и прямой кишки, а также вознаграждающие эффекты веществ, вызывающих привыкание. В дополнение к своим прямым биологическим эффектам NO может взаимодействовать с активными формами кислорода, такими как супероксидные радикалы, с образованием активных форм азота (RNS), диоксида азота (NO_2) и пероксинитрита (ONOO-) [7, 8]. Пероксинитрит способствует клеточной трансформации, действуя как мощный антиоксидант и взаимодействуя или окисляя киназы и факторы транскрипции, нарушая клеточную сигнальную сеть. Нитриты, нитраты, S-нитрозотиолы и нитрозамины являются метаболитами NO и медиаторами его цитотоксического/цитопротекторного действия, а именно ингибирование митохондриального дыхания, повреждение белков и ДНК, приводящее к генной мутации, потере функции белка, некрозу и апоптозу [9, 10, 11].

Синтез NO посредством iNOS может непосредственно индуцировать мутации GC-AT в p53, которые определяют потерю его активности в качестве гена-репрессора. NO напрямую ингибирует активность каспаз, что является эффективным механизмом блокирования апоптоза. Другие антиапоптотические эффекты NO зависят от ингибирования высвобождения цитохрома C, зависящего от NO/cGMP, увеличения экспрессии Bcl-2, который контролирует проницаемости митохондриальной мембраны, индукцию белка теплового шока (Hsp) 70 и Hsp-32, подавление образования церамидаи-активацициклооксигеназы-2 [7, 8].

NO играет важную роль в прогрессировании опухоли за счет участия в регуляции ангиогенеза [7, 8, 9]. Эндогенный NO способствует увеличению кровотока в опухоли посредством дилатации артериол. Он снижает адгезионные взаимодействия лейкоцитов и повышает проницаемость сосудов [7, 8, 9]. Исследования показали, что VEGF, высвобождаемый в виде очищенного белка или продуцируемый опухолевыми клетками, требует функционального пути NO/cGMP на конечном этапе, что способствует неоваскуляризации. Другим механизмом, с помощью которого NO способствует ангиогенезу, является активация COX-2, который стимулирует продукцию проангиогенных факторов и простагландинов. NO также обладает стимулирующим эффектом, который опосредуется усилением активности MMP-2 и MMP-9 (матриксные металлопротеиназы) и снижением регуляции TIMP-2 и, возможно, TIMP-3 (тканевые ингибиторы MMP) [7, 8, 9].

NO может стимулировать или ингибировать ангиогенез в зависимости от концентрации и продолжительности воздействия, внутренней чувствительности клеток к NO, а также активности и распределения NO [7, 8, 9]. NO действует как нижестоящий медиатор множества ангиогенных эффекторов, но его механизмы сложны и включают несколько путей. Ангиогенные факторы, такие как сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), сфингозин-1-фосфат, ангиопоэтины, эстроген, напряжение сдвига и метаболический стресс, стимулируют высвобождение эндотелиального NO за счет усиления NOS³ [7, 8, 9]. Ингибирование NOS предотвращало индуцированный простагландином E₁ ангиогенез в роговице кролика *in vivo*, тогда как в этих моделях ангиогенез стимулировался донором NO нитропруссидом натрия (SNP) [10].

Исследования показали, что NO ограничивает пролиферацию лейкоцитарных клеток, что имеет неблагоприятные последствия для противоопухолевого ответа организма [5, 6, 7, 8, 9].

Кроме того, NO может регулировать многие молекулы и органеллы, участвующие в путях апоптоза, включая p53, Bcl-2, каспазы, митохондрии и белки теплового шока [12, 13, 14, 15].

Высокие уровни внеклеточного NO могут индуцировать апоптоз за счет прямого повреждения мембраны, ингибирования рибонуклеотидредуктазы и ингибирования образования клеточного АТФ митохондриальными ферментами переноса электронов аконитазой и митохондриальной глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназой [12, 13, 14, 15]. NO может индуцировать апоптоз посредством S-нитрозилирования NF-kB, глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы, рецептора Fas и Bcl-2 [12, 13, 14, 15]. P₅₃ накапливается после NO-опосредованного повреждения ДНК и может приводить

к апоптозу. В этом заключается петля отрицательной обратной связи, так как это приводит к трансрепрессии NOS₂ [13, 14, 15, 16]. Другие NO-опосредованные проапоптотические механизмы включают индукцию митоген-активируемой протеинкиназы-фосфатазы-1 (MKP-1) и подавление сурвивина). Эндогенный NO, катализируемый NOS1, индуцирует S-нитрозилирование GLuR6 при ишемии-реперфузии, активируя апоптотную передачу сигналов GluR6/PSD95/MLK3 и JNK. Обработка клеток меланомы человека A375 капсаицином и ресвератролом ингибировала рост клеток и стимулировала апоптоз за счет увеличения продукции NO, что приводило к активации p53 [17].

NO также может ингибировать апоптоз за счет экспрессии белка, защищающего от клеточной гибели, радикально-радикальных интерференций и S-нитрозилирования каспаз в их активном центре цистеинов и цГМФ [12, 13, 14, 15]. Ингибирование апоптоза NO наблюдалось в эндотелиальных клетках, клетках лимфомы, фолликулах яичников, сердечных миоцитах, сосудистых гладких клетках и гепатоцитах [12, 13, 14, 15]. Как экзогенный (донор NO и трансфекция NOS), так и эндогенный (провоспалительные медиаторы) NO ингибировал EMT, индуцированный трансформирующим фактором роста-β1, и апоптоз в гепатоцитах мышей. В первичных культурах В-клеток, выделенных от пациентов с В-клеточным хроническим лимфоцитарным лейкозом, введение l-NAME существенно увеличивало апоптотную фрагментацию ДНК в клетках В-клеточного хронического лимфоцитарного лейкоза [12, 13, 14, 15, 16]. Эндотелиальные клетки, предварительно обработанные провоспалительными цитокинами или донором NO, опосредовали увеличение экспрессии Bcl-2 и ингибирование белка Вах и, следовательно, защищали клетки от апоптоза, индуцированного ультрафиолетом А [14, 15, 16]. Этот эффект устранялся добавлением ингибитора NOS₂. Фактор некроза опухоли-α и обработанные актиномицином-D клетки MCF-7, обработанные донорами NO, показали ингибирование расщепления Bcl-2 и высвобождения цитохрома с, что приводило к блокированию апоптоза и активации, подобной каспазе-3. Апоптоз индуцируется, а предраковые поражения толстой кишки предотвращаются за счет ингибирования NOS₂ и NF-kB при использовании доластатина-15, линейного пептида моллюска, и целекоксиба, селективного ингибитора циклооксигеназы-2 [14, 15, 16]. Апоптоз гепатоцитов, вызванный гликохенодезоксиколатом, может быть усилен или аннулирован NO. Использование доноров NO снова продемонстрировало двойную роль NO в апоптозе: низкие концентрации (0,1 mM SNAP/0,15 mM SNP) снижали апоптоз, а высо-

кие концентрации (0,8 мМ SNAP/1,2 мМ SNP) усиливали его, тогда как гликохенодезоксихолат-индуцированный апоптоз гепатоцитов усиливался с ингибитором NOS2 1400 Вт. Следовательно, в данном случае эндогенная iNOS ингибирует апоптоз, но экзогенная NO играет двойную роль во время гликохенодезоксихолат-индуцированного апоптоза [14, 15, 16].

NO, продуцируемый макрофагами, клетками Купфера, естественными киллерами и эндотелиальными клетками, участвует в противоопухолевой активности против многих типов опухолей за счет реакции с супероксидным радикалом (O_2^-) с образованием сильного окислителя пероксинитрита (ONOO⁻) [1, 2, 3, 4, 12].

Таким образом, оксид азота может давать двухфазный эффект, меняющийся в зависимости от его концентрации в точке приложения. Когда его концентрация выходит за пределы критического уровня в 1 мкм, подходящего для выживаемости, ангиогенеза и роста опухоли, инициируется остановка роста, стимуляция апоптоза и прямое цитотоксическое действие на опухолевые клетки.

Механизмы действия фотодинамической терапии

Фотодинамическая терапия (ФДТ) – это метод лечения, при котором используются лекарственные средства или красители, фотосенсибилизаторы, нетоксичные, являющиеся фармакологически активными только под воздействием света в присутствии кислорода [18]. Благодаря избирательности и специфичности, ФДТ считается возможным методом лечения для новообразований, включая раковые заболевания кожи [19], головы и шеи [20], носоглотки [21], пищевода, легких [22], поджелудочной железы [23, 24], билиарного рака [25, 26, 27] и мочевого пузыря [28]. Четыре основных вида фотосенсибилизаторов являются производными порфирина, хлора, фталоцианина и порфицена [18]. ФДТ – терапевтический метод, основанный на сочетании трех факторов: фотосенсибилизирующего агента (ФС), света с определенной длиной волны и присутствия молекулярного кислорода [29]. Фотодинамическая реакция начинается с поглощения света ФС в ткани-мишени, что запускает серию фотохимических реакций, приводящих к образованию реактогенной молекулы кислорода [30]. После поглощения света ФС переходит из основного состояния (синглетное состояние) в короткоживущее электронно-возбужденное синглетное состояние (несколько наносекунд или меньше) [29]. Это возбужденное состояние очень нестабильно и может распасться на основное состояние, теряя избыток энергии за счет излучения света (флуоресценция) или выделения тепла (внутренняя конверсия) [18, 30]. Однако синглетное состояние может претерпевать ин-

теркомбинационные переходы и переходить в более стабильное, долгоживущее, электронно-возбужденное состояние (триплетное состояние) за счет спиновой конверсии электрона на более высокоэнергетической орбитали [30]. Это возбужденное состояние может распасться на основное состояние посредством излучения света (фосфоресценция) или подвергаться двум видам реакций [29]. Триплетное состояние имеет большее время жизни (до десятков микросекунд), что дает достаточно времени для прямой передачи энергии молекулярному кислороду (O_2). Этот этап переноса энергии приводит к образованию синглетного кислорода (1O_2) и основному состоянию ФС, называемому реакцией типа II [2,11]. Синглетный кислород чрезвычайно реактивен и может взаимодействовать с большим количеством биологических субстратов, вызывая окислительное повреждение и, в конечном итоге, гибель клеток [31]. Реакция типа I также может происходить, если ФС в возбужденном состоянии взаимодействует непосредственно с субстратом, таким как клеточная мембрана или молекула, и подвергается реакциям отщепления атома водорода или переноса электрона с образованием свободных радикалов и ионов-радикалов. Эти радикалы реагируют с молекулярным кислородом, образуя реактогенную молекулу кислорода, такие как O_2^- , HO и H_2O_2 , которые вызывают окислительное повреждение, которое может привести к биологическим повреждениям [31].

Исследования по воздействию ФДТ на раковые клетки проходят в изучении развития трех механизмов клеточной смерти под действием ФДТ: аутофагии, апоптоза и некроза [5, 39].

Апоптоз - это процесс естественной гибели клеток, требующий АТФ и характеризующийся уменьшением цитоплазматического, клеточного объема, конденсацией хроматина и фрагментацией ядра [18, 32]. В исследованиях *in vitro* и на животных (сирийские золотые и китайские хомяки) было выявлено несколько путей воздействия ФДТ, играющие роль в апоптозе клеток [18, 32]:

1) антиапоптотический белок семейства Bcl-2 может ослаблять свое действие после ФДТ. Он Bcl-2 является молекулярной мишенью при проведении ФДТ с использованием митохондриальных фотосенсибилизаторов и может определить чувствительность раковых клеток к апоптозу и общий ответ от рака на ФДТ;

2) активация каспаз -6, -7, -9 после высвобождения в цитозоль протеина С, выброс которого контролируется Bcl-2 с последующим расщеплением ADP-рибозы – белковой полимераза репарации ДНК;

3) усиление экспрессии после ФДТ Fas-лиганда (FasL), который принадлежит к группе факторов некроза опухоли (TNF). Когда FasL

связывается со своим рецептором на мембране раковой клетки, происходит апоптоз. Система Fas / FasL могла как сигнализировать апоптоз непосредственно через активацию систем каспаз (рак носоглотки, толстой кишки, мочевого пузыря), так и через воздействие на митохондрии с инактивацией Bcl-2 (основной изученный путь действия FasL);

4) кальций играет важную роль в действии фотосенсибилизатора. Индуцированное ФДТ увеличение уровня внутриклеточного кальция может быть связано с клеточным апоптозом. В исследованиях на животных выявлено, что хелаторы кальция ингибируют ФДТ-индуцированное высвобождение цитохрома C, активацию каспазы-3 и апоптоз, что указывает на то, что кальций действительно играет роль в индуцированном ФДТ апоптозе.

Аутофагия - это процесс, при котором аномальная цитоплазма секвестрируется в двойные мембранные везикулы и сливается с лизосомами, при этом содержимое аутофагосом переваривается и перерабатывается [18, 32]. Из-за морфологических и биохимических особенностей смерти аутофагической клетки, она отличается от апоптоза и некроза [18, 32]. Наиболее важным при развитии аутофагии после ФДТ является то, что аутофагия не зависит от цели фотосенсибилизатора, поскольку она наблюдается при локализации фотосенсибилизаторов в эндоплазматическом ретикулуме, митохондриях, лизосомах и эндосомах [18, 32]. ФДТ может не только влиять на аутофаги, повреждая органеллы (лизосомы и эндосомы), но также влиять на белки, которые участвуют в этом механизме, что играет ключевую роль при заметном снижении апоптоза после создания фотопамяти или фармакологической инактивации подавления функции Bcl-2 [18, 32, 33]. В этих случаях эффективность ФДТ не снижалась, поскольку подавление апоптоза приводило к усиленной аутофагии с сильной вакуолированной морфологией [5, 39]. Предполагается, что аутофагия играет роль процесса, сопутствующего выживанию в компетентных в апоптозе клетках и роль процесса клеточной смерти в апоптотически недееспособных клетках [18, 32, 33].

Некроз морфологически характеризуется повышением клеточной проницаемости и объема, набуханием органелл и разрывом плазматической мембраны. Считается, что более высокая световая доза всегда сопровождается клеточным некрозом с повреждением ДНК клетки [33, 34]. Исследования на животных продемонстрировали, что при увеличении дозы фотосенсибилизатора и/или продолжительности облучения, раковые клетки опухоли подвергаются некрозу, что давало более эффективный результат ФДТ в плане циторедуктивного эффекта у быстрорастущих опухолей [33, 34].

В рандомизированном контролируемом исследовании имплантированной поджелудочной железы с раковым процессом у сирийских золотых хомячков, обработанных 5-аминолаувеиновой кислотой, ФДТ-индуцированный некроз опухолей достигал до 8 мм в глубину, а время выживания обработанных животных было значительно больше, чем в необработанной контрольной группе [18]. В других экспериментах с другими препаратами максимальная глубина полученного некроза составила 12,4 мм с неравномерной зоной некроза и замещением ее соединительной тканью, что предположительно связано с изменением репаративными процессами и негетерогенным распределением фотосенсибилизатора в опухолевой ткани [18, 32].

Кроме прямого цитотоксического действия ФДТ оказывает еще два типа действия, опосредованно приводящих к разрушению опухолевой ткани [18, 32]:

1) повреждение сосудов – механизм основан на том, что патологический ангиогенез играет важную роль адекватном кровоснабжении опухоли кислородом и питательными веществами, а значит и в росте образования. Однако при развитии ФДТ-индуцированной гипоксии и повреждении сосудов опухоли с развитием микротромбозов и блокады микроциркуляторного русла опухолевая ткань вырабатывает факторы ангиогенеза, уменьшающие эффект действия ФДТ. Однако при сочетании ФДТ с ингибиторами ангиогенеза был показан лучший эффект ишемического и гипоксического воздействия на опухоль [3];

2) активация иммунной системы – ФДТ-индуцированный некроз опухолевых клеток приводит к последующей индукции воспалительного ответа с противоопухолевым иммунным ответом [18, 32]. Выявлено, что ФДТ изменяет микроокружение опухоли путем стимулирования высвобождения или экспрессии различных провоспалительных и острофазовых белков-посредников [18, 32]. В ответ на многие виды стресса клетки продуцируют белки теплового шока (HSP), и считается, что ФДТ может индуцировать экспрессию и высвобождение HSP, которые, в свою очередь, стимулируют воспалительные и иммунные ответы [18, 32]. Кроме того, организм распознает повреждение и цитотоксическое действие ФДТ, и это дополнительно вызывает сильную реакцию хозяина с нейтрофилией как одним из ее проявлений. В экспериментах на метастатических мышах показано, что ФДТ приводит к увеличению циркулирующих нейтрофилов и замедления роста опухоли [18, 32]. Истощение нейтрофилов уменьшало ФДТ-опосредованное действие на опухолевый рост [18, 32]. Противоопухолевый иммунитет зависит от наличия активированных антиген-представляющих клеток (АПК) [18, 32]. ФДТ может

увеличить активность АПК и стимулировать пролиферацию Т-клеток и Т-клеточной секреции интерферонов гамма [18, 32]. Кроме того, ФДТ является не только прямым медиатором воспаления, но она также стимулирует множество вторичных воспалительных молекул, таких как цитокины, интерлейкин-1бета (IL-1beta), TNF-альфа, IL-6, IL-10, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, тромбоксан, простагландины, лейкотриены, гистамины и коффициенты коагуляции [18, 32]. Более того, ФДТ в сочетании с низкодозным циклофосфамидом может продуцировать опухолеспецифические цитотоксические Т-клетки и стимулировать мощную иммунную память, что обусловило увеличение выживаемости и ремиссии у метастатических мышей [18, 32].

Таким образом, при любом виде механизма клеточной смерти при ФДТ кислород имеет решающее значение для производства реактогенных молекул во время процедуры. Концентрация кислорода может значительно различаться между разными опухолями и даже между разными участками одной и той же опухоли, в зависимости от плотности сосудистой сети. Недостаток кислорода может быть ограничивающим фактором, особенно в более глубоких солидных опухолях, часто характеризующихся анаэробным микроокружением. Как упоминалось выше, облучение опухоли с высокой интенсивностью светового потока может привести к временному локальному истощению кислорода. Это приводит к прекращению образования реактогенных молекул кислорода и снижению эффективности лечения. Кислородное истощение происходит, когда скорость потребления кислорода фотодинамической реакцией превышает скорость диффузии кислорода в облученной области. Кроме того, ФДТ может вызывать окклюзию сосудов опухоли, уменьшая приток крови к опухолевой ткани, еще больше усиливая гипоксию [35, 36].

Обсуждение и заключение

На настоящий момент рассматриваются различные способы потенцирования действия ФДТ, основанные на терапии донаторами кислорода, способствующими преодолению локальной гипоксии в месте опухоли [36, 37, 38, 39, 40]. Одним из таких донаторов является оксид азота, который в высоких концентрациях сам по себе вызывает цитотоксические противоопухолевые эффекты. При этом необходимо учитывать, что оксид азота способен действовать как антиоксидант, нарушая цепное пероксидирование мембран клеток, являющееся одним из основных звеньев патогенеза клеточной смерти при ФДТ [36, 37, 38, 39, 40]. Когда перекисное окисление липидов инициируется фотохимией типа II ($1O_2$), цепное пероксиди-

рование, индуцированное восстановлением первичных LOOH, не зависит от света и может объяснить значительную часть последующей цитолетальности. Необходимо лучшее понимание этой возможности в области ФДТ, чтобы можно было повысить эффективность лечения рациональным способом, а именно, путем противодействия способности NO действовать как антиоксидант, разрывающий цепь. При этом после проведения процедуры ФДТ решающую роль в ускоренной продукции оксида азота играет не базальная, а индуцированная iNOS, которая продуцирует оксид азота в концентрациях не только повышающих резистентность клеток к ФДТ, но также способствующих росту и инвазивной агрессивности, проявляемой выжившими или не подвергшимися воздействию клетками. Современные исследования iNOS, регулируемой фотострессом, показали, что эта синтаза является доминирующим фактором гиперрезистентности/агрессивности через NO, который он генерирует [36, 37, 38, 39, 40].

Двухфазный механизм эффектов оксида азота был использован на моделях опухолевого роста для замедления прогрессирования новообразования и повышения эффективности как химиотерапии, так и лучевой терапии [41]. Исследователи используют различные стратегии воздействия *in vivo* – внутриопухолевый синтез и экзогенную доставку этой молекулы, включая генную терапию nNOS, индукцию iNOS и введение препаратов-донаторов NO [42, 43].

Альтернативными механизмами доставки NO может быть использование препаратов, высвобождающих NO, или донаторов NO. Они способны вызывать замедленное высвобождение NO с широким диапазоном периодов полувыведения и с предсказуемыми содержаниями метаболита в организме. Они могут одновременно оказывать множественное противоопухолевое действие, включая усиление стимуляции апоптоза, ингибирование развития метастазов, ангиогенеза и предотвращение гипоксии в зависимости от концентрации донора NO, типа и стадии рака [44].

Наиболее многообещающими считают донаторы, относящиеся к классу diazeniumдиолатов, поскольку для них доказана эффективность в качестве химио- и радиосенсибилизирующих агентов наряду с другими положительными свойствами, такими как длительный период полувыведения и накопление в тканях опухоли.

Использование нитроглицерина в качестве хемосенсибилизирующего агента, как показано Yasuda et al. [45, 46, 47], представляет безопасную и доступную альтернативу для лечения резистентных к химиотерапии или метастатических опухолей. Донаторы NO могут рассматриваться как новые потенциальные терапевтические агенты с двойным эффектом в лечении

пациентов с рефрактерным раком и для предотвращения инициирования метастатического каскада [45, 46].

Однако терапевтическое применение доноров NO было ограничено потенциальными системными эффектами *in vivo*. Эти побочные эффекты включают вазодилатацию, приводящую к выраженной гипотензии и накоплению токсичных метаболитов, таких как цианиды [47]. Необходимость разработки идеального донора NO с максимальными антипролиферативными свойствами и минимальными побочными эффектами привела к изобретению NO-гибридов. NO-гибриды представляют уникальный раздел в арсенале противораковых агентов. Сочетание NO с существующими препаратами дает преимущество добавления или усиления влияния NO на преимущества таких препаратов, как нестероидные противовоспалительные средства или статины. NO-содержащие лекарственные гибриды могут стать эффективными противоопухолевыми агентами и находятся в стадии клинических испытаний (например, сочетание донатор NO-аспирин у пациентов с высоким риском развития колоректального рака) [48].

Флуоресцентные нанокристаллы, также известные как квантовые точки (КТ), могут быть связаны с молекулами NO-донора. Они могут быть средством для эффективного лечения солидных опухолей с помощью фотодинамической терапии [49, 50, 51, 52]. В этом случае нитрозильные соединения могут генерироваться при умеренном повышении свободно-радикального окисления и нитрозилирования, что позволяет осуществлять непосредственное воздействие на опухолевые клетки [49, 50, 51, 52].

Перспективными донаторами оксида азота, способными потенцировать действие ФДТ являются препараты L-аргинина. При этом высокодозные схемы терапии перед процедурой проведения ФДТ могли бы способствовать длительному фототоксическому эффекту даже в солидных злокачественных новообразованиях в отсутствие побочных эффектов прямых донаторов.

При этом важнейшим условием успешности фототоксического эффекта является блокирование продукции эндогенного оксида азота после ФДТ. Транскрипция iNOS во многих раковых клетках регулируется субъединицей p65 NF- κ B, которая активируется при катализируемом бур300 ацетиловании остатка K310. В клетках, подвергшихся фототоксическому стрессу белок бромодомена Brd4 стимулировал транскрипцию iNOS путем связывания с p65-асK310 [53, 54]. JQ1, фармакологический ингибитор Brd4 предотвращает взаимодействие с группами асK факторов транскрипции или гистонов, ингибируя продукцию индуцированной синтазы, что уже подтверждено в серии исследований, где

данный препарат использовался вместе со стандартным комплексным противоопухолевым лечением [55, 56].

Таким образом, применение препаратов-донаторов оксида азота высокодозными курсами до процедуры фотодинамической терапии в сочетании с применением ингибитора iNOS после ФДТ позволяет значительно потенцировать эффект от ФДТ на всех стадиях злокачественного новообразования, и является перспективным и высоко безопасным методом лечения злокачественных новообразований.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы / References:

1. Girotti A.W. Nitric Oxide-elicited Resistance to Antitumor Photodynamic Therapy via Inhibition of Membrane Free Radical-mediated Lipid Peroxidation. *Photochem Photobiol.* 2021; 97(4):653-663. doi: 10.1111/php.13373.
2. Pascale R.M., Peitta G., Simile M.M., Feo F. Alterations of Methionine Metabolism as Potential Targets for the Prevention and Therapy of Hepatocellular Carcinoma. *Medicina (Kaunas).* 2019; 55(6): 296.
3. Salimian Rizi B., Achreja A., Nagrath D. Nitric Oxide: The Forgotten Child of Tumor Metabolism. *Trends Cancer.* 2017; 3(9):659-672.
4. Khan F.H., Dervan E., Bhattacharyya D.D., McAuliffe J.D., Miranda K.M., Glynn S.A. The Role of Nitric Oxide in Cancer: Master Regulator or Not? *Int J Mol Sci.* 2022; 21(24):9393.
5. Guo H., Wen Z., Yang S., Qi H. Association of p73 G4C14-A4T14 and p53 codon 72 polymorphism with cervical cancer in Chinese population. *Indian J Cancer.* 2021; 59(1):33-38. doi: 10.4103/ijc.IJC_538_19.
6. Choi B.M., Pae H.O., Jang S.I., Kim Y.M., Chung H.T. Nitric oxide as a pro-apoptotic as well as anti-apoptotic modulator. *J Biochem Mol Biol.* 2002; 11:116-126.
7. Ikeda A., Nagayama S., Sumazaki M., Konishi M., Fujii R., Saichi N., Muraoka S., Saigusa D., Shimada H., Sakai Y., Ueda K. Colorectal Cancer-Derived CAT1-Positive Extracellular Vesicles Alter Nitric Oxide Metabolism in Endothelial Cells and Promote Angiogenesis. *Mol Cancer Res.* 2021; 19(5):834-846. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-20-0827.
8. Ziche M., Morbidelli L. Nitric oxide and angiogenesis. *J Neurooncol.* 2000; 11:139-148.
9. Amy J. Burke, Francis J. S., Francis J. G., Sharon A. G. The yin and yang of nitric oxide in cancer progression. *Carcinogenesis.* 2013; 34(3): 503-512. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgt034>
10. Ziche M., Morbidelli L., Masini E., Amerini S., Granger H.J., Maggi C.A., Geppetti P., Ledda F. Nitric oxide mediates angiogenesis in vivo and endothelial cell growth and migration in vitro

promoted by substance P. *J. Clin. Invest.* 1994; 94: 2036–2044.

11. Nguyen T., Brunson D., Crespi C.L., Penman B.W., Wishnok J.S., Tannebaum S.R. DNA damage and mutation in human cells exposed to nitric oxide in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1992; 11:3030–3034.

12. Broholm H., Rubin I., Kruse A., Braendstrup O., Schmidt K., Skriver E.B., Lauritzen M. Nitric oxide synthase expression and enzymatic activity in human brain tumors. *Clin Neuropathol.* 2003; 11(6):273–281.

13. Shang Z.J., Li J.R., Li Z.B. Effects of exogenous nitric oxide on oral squamous cell carcinoma: an in vitro study. *J Oral Maxillofac Surg.* 2002; 11(8):905–910.

14. Shang Z.J., Li J.R. Expression of endothelial nitric oxide synthase and vascular endothelial growth factor in oral squamous cell carcinoma: its correlation with angiogenesis and disease progression. *J Oral Pathol Med.* 2005; 11:134–139.

15. Li C., Lechner M., Lirk P., Rieder J. Inducible nitric oxide synthase (iNOS) in tumor biology: the two sides of the same coin. *Semin Cancer Biol.* 2005; 11:277–289.

16. Lepoivre M., Flaman J.M., Henry Y. Early loss of the tyrosyl radical in ribonucleotidoreductase of adenocarcinoma cells producing nitric oxide. *J Biol Chem.* 1992; 11:22994–23000.

17. Kim M.Y. Nitric oxide triggers apoptosis in A375 human melanoma cells treated with capsaicin and resveratrol. *Mol. Med. Report.* 2012, 5:585–591.

18. Correia J.H., Rodrigues J.A., Pimenta, S., Dong T., Yang Z. Photodynamic Therapy Review: Principles, Photosensitizers, Applications, and Future Directions. *Pharmaceutics.* 2021, 13: 1332. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13091332> (accessed on 10 June 2022)

19. Zhao B., He Y.Y. Recent advances in the prevention and treatment of skin cancer using photodynamic therapy. *Expert Review of Anticancer Therapy.* 2010; 10(11):1797–1809.

20. Jerjes W., Upile T., Akram S., Hopper C. The surgical palliation of advanced head and neck cancer using photodynamic therapy. *Clinical Oncology.* 2010; 22(9): 785–791.

21. Wildeman M.A., Nyst H.J., Karakullukcu B., Tan B.I. Photodynamic therapy in the therapy for recurrent/persistent nasopharyngeal cancer. *Head & Neck Oncology.* 2009; 1: article 40.

22. Chen M., Pennathur A., Luketich J.D. Role of photodynamic therapy in unresectable esophageal and lung cancer. *Lasers in Surgery and Medicine.* 2006; 38(5): 396–402.

23. Ducreux M., Cuhna A. Sa., Caramella C. et al. Cancer of the pancreas: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology.* 2015; 26: 56–68.

24. Yusuf T.E., Matthes K., Brugge W.R. EUS-guided photodynamic therapy with verteporfin for

ablation of normal pancreatic tissue: a pilot study in a porcine model (with video). *Gastrointestinal Endoscopy.* 2008; 67(6): 957–961.

25. Leggett C.L., Gorospe E.C., Murad M.H., Montori V.M., Baron T.H., Wang K.K. Photodynamic therapy for unresectable cholangiocarcinoma: a comparative effectiveness systematic review and meta-analyses. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2012; 9:189–195.

26. Lu Y., Liu L., Wu J.C., Bie L.K., Gong B. Efficacy and safety of photodynamic therapy for unresectable cholangiocarcinoma: a meta-analysis. *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* 2015; 39:718–724.

27. Meier B., Caca K. Endoscopic and Photodynamic Therapy of Cholangiocarcinoma. *ViscMed.* 2016;32(6):411-413. doi:10.1159/000453540

28. Jain S., Kockelbergh RC. The role of photodynamic diagnosis in the contemporary management of superficial bladder cancer. *BJU Int.* 2005; 96(1):17-21. doi: 10.1111/j.1464-410X.2004.05559.x. PMID: 15963113.

29. Lee C-N., Hsu R., Chen H., Wong T-W. Daylight Photodynamic Therapy: An Update. *Molecules.* 2020; 25(21):5195. <https://doi.org/10.3390/molecules25215195>

30. Rocha L.G.B. Development of a Novel Photosensitizer for Photodynamic Therapy of Cancer. Ph.D. Thesis, University of Coimbra, Coimbra, Portugal, 2015. 161p.

31. Fitzgerald F. Photodynamic Therapy (PDT): Principles, Mechanisms and Applications; Nova Science Publishers, Inc.: New York, NY, USA, 2017. 223 p.

32. Zhao X., Liu J, Fan J., Chao H., Peng X. Recent progress in photosensitizers for overcoming the challenges of photodynamic therapy: From molecular design to application. *Chem. Soc. Rev.* 2021; 50: 4185–4219.

33. Hamblin M.R.; Huang Y. Imaging in Photodynamic Therapy; Taylor & Francis Group: Boca Raton, FL, USA, 2017. 501 p.

34. Lee C.-N., Hsu R., Chen H., Wong T.-W. Daylight photodynamic therapy: An update. *Molecules* 2020; 25: 5195.

35. Soliman N., Sol V., Ouk T.-S., Thomas C.M., Gasser G. Encapsulation of a Ru(II) polypyridyl complex into polylactide nanoparticles for antimicrobial photodynamic therapy. *Pharmaceutics.* 2020; 12:961.

36. Giles N.M., Kumari S., Gang B.P., Yuen C.W., Billaud E.M., Giles G.I. The molecular design of S-nitrosothiols as photodynamic agents for controlled nitric oxide release. *Chem Biol Drug.* 2012; 11(3):471–478.

37. Padmaja S., Huie R.E. The reaction of nitric oxide with organic peroxy radicals. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1993; 195:539–544.

38. Bhowmick R., Girotti A.W. Cytoprotective induction of nitric oxide synthase in a cellular model

of 5-aminolevulinic acid-based photodynamic therapy. *Free Radic. Biol. Med.* 2010; 48:1296–1301.

39. Bhowmick R., Girotti A.W. Rapid upregulation of cyto-protective nitric oxide in breast tumor cells subjected to a photodynamic therapy-like oxidative challenge. *Photochem. Photobiol.* 2011; 87: 378–386.

40. Bhowmick R., Girotti A.W. Cytoprotective signaling associated with nitric oxide upregulation in tumor cells subjected to photodynamic therapy-like oxidative stress. *Free Radic. Biol. Med.* 2013; 57:39–48.

41. Choi B.M., Pae H.O., Jang S.I., Kim Y.M., Chung H.T. Nitric oxide as a pro-apoptotic as well as anti-apoptotic modulator. *J Biochem Mol Biol.* 2002; 11:116–126.

42. Aranda E., López-Pedraza C., De La Haba-Rodríguez J.R., Rodríguez-Ariza A. Nitric oxide and cancer: the emerging role of S nitrosylation. *Curr Mol Med.* 2012; 11:50–67.

43. Korde (Choudhari) S., Sridharan G., Gadbaile A., Poornima V. Nitric oxide and oral cancer: A review. *Oral Oncol.* 2012; 11:475–483.

44. Singh S., Gupta A.K. Mini review nitric oxide: role in tumour biology and iNOS/NO-based anticancer therapies. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2011; 11(6):1211–1224.

45. Huerta S., Chilka S., Bonavida B. Nitric oxide donors: novel cancer therapeutics (Review). *Int J Oncol.* 2008; 11:909–927.

46. Bonavida B., Baritaki S., Huerta-Yepez S., Vega M.I., Chatterjee D., Yeung K. Novel therapeutic applications of nitric oxide donors in cancer: roles in chemo- and immunosensitization to apoptosis and inhibition of metastases. *Nitric oxide.* 2008; 11(2):152–157.

47. Yasuda H., Yamaya M., Nakayama K., Sasaki T., Ebihara S., Kanda A., Asada M., Inoue D., Suzuki T., Okazaki T., Takahashi H., Yoshida M., Kaneta T., Ishizawa K., Yamada S., Tomita N., Yamasaki M., Kikuchi A., Kubo H., Sasaki H. Randomized phase II trial comparing nitroglycerin plus vinorelbine and cisplatin with vinorelbine and cisplatin alone in previously untreated stage IIIB/IV non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2006; 11:688–694.

48. Yasuda H., Nakayama K., Watanabe M., Suzuki S., Fuji H., Okinaga S., Kanda A., Zayasu K., Sasaki T., Asada M., Suzuki T., Yoshida M., Yamada S., Inoue D., Kaneta T., Kondo T., Takai Y., Sasaki H., Yanagihara K., Yamaya M. Nitroglycerin treatment may enhance chemosensitivity to docetaxel and carboplatin in patients with lung adenocarcinoma. *Clin Cancer Res.* 2006; 11:6748–6757.

49. Wang J., Teng Y., Hao Y., Oh-Lee J., Mohanty D.K. Preparation and properties of polyamines: part II controlled and sustained release of nitric oxide (NO) from nitrosated polymers. *Polym J.* 2009; 11(9):715–725.

50. Friedman A.J., Han G., Navati M.S., Chacko M., Gunther L., Alfieri A., Friedman J.M. Sustained

release nitric oxide releasing nanoparticles: characterization of a novel delivery platform based on nitrite containing hydrogel/glass composites. *Nitric Oxide.* 2008; 11(1):12–20.

51. Cabrales P., Han G., Roch C., Nacharaju P., Friedman A.J., Friedman J.M. Sustained release nitric oxide from long-lived circulating nanoparticles. *Free Radical Bio Med.* 2010; 11(4):530–538.

52. Marquele-Oliveira F., Santana D.C., Taveira S.F., Vermeulen D.M., de Oliveira A.R., da Silva R.S., Lopez R.F. Development of nitrosyl ruthenium complex-loaded lipid carriers for topical administration: improvement in skin stability and in nitric oxide release by visible light irradiation. *J Pharm Biomed Anal.* 2010; 11(4):843–851.

53. Fahey J. M., Korytowski W., Girotti A.W. Upstream signaling events leading to elevated production of pro-survival nitric oxide in photodynamically-challenged glioblastoma cells. *Free Radic. Biol. Med.* 2019; 137(37): 45–67.

54. Fahey J.M., Stancill J.S., Smith B.C., Girotti A.W. Nitric oxide antagonism to glioblastoma photodynamic therapy and mitigation thereof by BET bromodomain inhibitor JQ1. *J Biol. Chem.* 2018; 293: 5345–5359

55. Filippakopoulos P., Knapp S. Targeting bromodomains: epigenetic readers of lysine acetylation. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2014; 13:337–356.

56. Shu S., Polyak K. BET bromodomain proteins as cancer therapeutic targets. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* 2016; 81:123–129.

Контактные данные

Автор, ответственный за переписку: Цеймах Александр Евгеньевич, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры факультетской хирургии имени профессора И.И. Неймарка с курсом ДПО, Алтайский государственный медицинский университет.

656038, г. Барнаул, пр. Ленина, 40

E-mail: alevtsei@rambler.ru. Тел.: +8-909-504-45-47

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1199-3699>

Scopus Author ID: 57216871819

Web of Science Researcher ID: ACB-4622-2022

Информация об авторах

Олжаев Саяхат Таурбекович, кандидат медицинских наук, директор КПП на ПХВ, Алматинская региональная многопрофильная клиника. 050000, г. Алматы, Медеуский район, ул. Розы Баглановой, 69а

E-mail: s.olzhayev20@gmail.com. Тел.: +7-701-774-9999.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3312-323X>

Лазарев Александр Федорович, доктор медицинских наук, профессор кафедры онкологии

и лучевой терапии с курсом ДПО, Алтайский государственный медицинский университет. 656038, г. Барнаул, пр. Ленина, 40
E-mail: lazarev@akzs.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1080-5294>
Scopus Author ID: 36166916600

Шойхет Яков Нахманович, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент Российской Академии Наук, заведующий кафедрой факультетской хирургии имени профессора И.И. Неймарка с курсом ДПО, Алтайский государственный медицинский университет. 656038, г. Барнаул, пр. Ленина, 40
E-mail: starok100@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5253-4325>
Scopus Author ID: 55913368500 Web of Science Researcher ID: L-7465-2015

Поступила в редакцию 04.07.2022

Принята к публикации 13.08.2022

Для цитирования: Цеймах А.Е., Олжаев С.Т., Лазарев А.Ф., Шойхет Я.Н. Влияние оксида азота на канцерогенез при проведении фотодинамической терапии. Обзор. *Бюллетень медицинской науки*. 2022;3(27): 128-137.

Citation: Tseimakh A.E., Olzhayev S.T., Lazarev A.F., Shoykhet Ia.N. Influence of nitric oxide on carcinogenesis during photodynamic therapy. Review. *Bulletin of Medical Science*. 2022;3(27): 128-137. (In Russ.)