

ОБЗОРНЫЕ И ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СТАТЬИ

УДК 575.224.2

РОЛЬ ГЕНА *АТОХ1* В МЕТАБОЛИЗМЕ МЕДИ И В ПАТОГЕНЕЗЕ МЕДЬ-ИНДУЦИРОВАННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

© 2023 г. И. Ж. Жалсанова¹ *, Е. А. Фонова¹, Д. И. Жигалина¹, Н. А. Скрыбин¹

¹Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный
исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск, 634050 Россия

*e-mail: irina.zhalsanova@medgenetics.ru

Поступила в редакцию 15.04.2022 г.

После доработки 10.06.2022 г.

Принята к публикации 07.07.2022 г.

Белок АТОХ1 (Antioxidant Protein 1) представляет собой медный металлошаперон человека, который играет важную роль в клеточном гомеостазе меди. Белок ответственен за захват цитозольной меди с CTR1 (транспортер меди 1) и перенос на медные насосы в транс-сети Гольджи к белкам АТР7А и АТР7В. В настоящем обзоре были собраны данные об антиоксидантной роли *АТОХ1*, роли гена в регулировании ангиогенеза и пролиферации раковых клеток, а также роли в патогенезе медь-индуцированных заболеваний – болезни Вильсона–Коновалова и болезни Менкеса.

Ключевые слова: *АТОХ1*, металлошапероны, болезнь Вильсона–Коновалова, болезнь Менкеса.

DOI: 10.31857/S0016675823030128, **EDN:** IQRALQ

Медь (Cu) является важным металлом с высоким окислительно-восстановительным потенциалом, необходимым для большинства биологических систем. Медь обнаружена в различных клетках и тканях, при этом самые высокие концентрации наблюдаются в печени (концентрация около 5 мкг/г) и головном мозге (4–5 мкг/г) [1]. Медь играет роль в клеточном дыхании, антиоксидантной защите, пигментации волос, сетчатки и кожи, гомеостазе железа, образовании соединительной ткани, формировании коллагенового матрикса, передаче сигнала киназы, липолизе и процессинге нейропептидов и имеет решающее значение для выживания всех живых организмов. В организм человека медь поступает в основном с пищей [2]. Потребление данного микроэлемента сильно различается у разных людей в зависимости от выбора продуктов питания и пищевых привычек, а также от факторов окружающей среды. Большинство диет содержат достаточно меди (1–5 мг), чтобы предотвратить дефицит, и недостаточно, чтобы вызвать токсичность [3].

Недостаточное поступление меди в организм приводит к большому числу метаболических нарушений и влияет на окислительно-восстановительный состав клеток. Дефицит меди снижает активность купроферментов и вызывает клеточные патологии, многие проявления которых могут быть связаны, по крайней мере частично, с дефектами механизмов антиоксидантной защиты [4]. Низкие уровни меди и сниженная активность

медь-зависимых ферментов были зарегистрированы при нейродегенеративных заболеваниях.

Однако и избыточное накопление токсично для всех организмов в значительной степени из-за того, что свободные ионы меди реагируют с пероксидом водорода с образованием гидроксильных радикалов, которые могут повредить белки, липиды и нуклеиновые кислоты и т.д. Медь также может изменять структуру и активность различных металлопротеинов, конкурируя с их природными металлами за места связывания. Возникновение дефицита или избытка меди происходит в результате экстремальных диет [5].

МЕТАЛЛОШАПЕРОНЫ

Регуляция меди опосредована медь-зависимыми ферментами, которые широко экспрессируются в клетках и тканях организма. Так, лизил-оксидаза, которая является медьсодержащим белком, сшивает коллаген и эластин, что необходимо для образования соединительной ткани. Церулоплазмин – ферроксидоза, которая содержит более 65% всей меди в организме, участвует в метаболизме железа и во многих окислительно-восстановительных реакциях организма.

Известно, что у эукариот металлоферменты меди обнаружены во многих клеточных локациях, включая цитозоль, митохондрии и клеточную поверхность. В 1991 г. было открыто семейство эукариотических цитоплазматических белков,

связывающих ионы металлов, которые участвуют во внутриклеточном перемещении ионов металлов [1]. Исследования *in vitro* показывали, что большая часть ферментов меди легко усваивает металл без вспомогательных белков, однако эксперименты *in vivo* показали, что требуется наличие дополнительного фактора — шаперонов [6].

Металлошапероны — небольшие растворимые белки, которые доставляют ионы металлов к месту назначения или в промежуточные положения внутри клеток, защищая при этом металлы от случайных участков связывания или вредных реакций. Первое упоминание о металлошаперонах меди датируется 1997 г., до этого не существовало установленных молекул, которые выполняли эту функцию. Металлошапероны отвечают за транспортировку ионов металлов к белкам-мишеням. Так, функция металлошаперона должна быть двойственной — связывание иона металла и перенос иона металла к белку-партнеру или от него. Для связывания иона металла необходим участок хелатирования, а перенос осуществляется посредством специфических белок-белковых взаимодействий [7].

Все выделенные к настоящему времени шапероны меди были впервые идентифицированы в пекарских дрожжах *Saccharomyces cerevisiae*. В работе 1999 г. М.Е. Portnoy и соавт. выделяли три металлошаперона меди: дрожевой Lys7p (человеческий CCS), который доставляет медь к супероксиддисмутазе 1 (SOD1) в цитозоле; дрожевой и человеческий COX17, которые направляют медь в митохондрии для активации цитохромоксидазы; и дрожевой Atx1p (человеческий HAH1 или ATOX1), который специфически переносит медь по секреторному пути для включения в ферменты меди, предназначенные для клеточной поверхности или внеклеточной среды [8].

Leo W.J. Klomp с соавт. [7] провели скрининг библиотеки кДНК печени человека и выделили гомолог Atx1p млекопитающих, который был назван HAH1 (human ATX homologue 1, сейчас ATOX1). Ген включал 113 пн 5'-нетранслируемой области, 204 пн открытой рамки считывания и 185 пн 3'-нетранслируемой последовательности. В результате РНК-блоттинга была изучена тканеспецифическая экспрессия гена, мРНК была обнаружена во всех исследованных тканях, что подтверждало важную роль данного белка в клеточном гомеостазе меди и антиоксидантной защите [7]. Было показано, что Atox1 млекопитающих защищает клетки от окислительного повреждения, вызванного перекисью водорода, изменение его уровня влияет на воспалительную реакцию и антиоксидантную защиту, а инактивация, в свою очередь, повышает чувствительность клеток к истощению глутатиона и другим стрессовым факторам [9, 10].

Антиоксидантный протеин ATOX1 — повсеместно экспрессируемый белок, массой 7.4 кДа, состоящий из 68 аминокислот, имеет компактную структуру с ферредоксиноподобной топологией $\beta\alpha\beta\beta\alpha\beta$, содержит сайт связывания металла (MBS) и потенциальный сигнал ядерной локализации (NLS), имеет мотив последовательности MxCxxC. Две короткие α -спирали, “покоящиеся” на β -листе, содержат два функциональных остатка Cys, что обычно наблюдается для ферредоксиноподобных малых оксидоредуктаз (рис. 1) [11]. ATOX1 доставляет медь к медным насосам, ATR7A и ATR7B, присутствующим на мембранах секреторных пузырьков и в транс-сети Гольджи, тем самым облегчая снабжение медью различных медь-зависимых оксидоредуктаз, созревающих в секреторных везикулах. ATOX1 образует стабильные гетеродимерные комплексы с медным мостиком со всеми шестью металлсвязывающими доменами ATR7B, расположенными в транс-сети Гольджи, и впоследствии транспортирует к нему медь. Предполагается, что ATOX1 регулирует присутствие меди в белке ATR7B, что, в свою очередь, влияет на внутриклеточную локализацию, посттрансляционную модификацию и каталитическую активность белка [12].

Дальнейшие исследования показали, что доставка меди к супероксиддисмутазе SOD1 (также известную как Cu/Zn-SOD гомодимерный цинк-и медьсодержащий фермент) осуществляется посредством фермента, который впоследствии называли медным шапероном для супероксиддисмутазы — CCS [13]. Человеческий CCS кодируется единственной копией гена на хромосоме 11 и повсеместно экспрессируется во всех исследованных тканях и типах клеток человека. CCS представляет собой многодоменный белок (29 кДа, 274 аминокислоты), который состоит из двух доменов (I и II) [14]. Благодаря гомологичной структуре домена I с ATOX1 CCS и ATOX1 могут напрямую взаимодействовать друг с другом, что в свою очередь, возможно, увеличивает родство меди к активации SOD1. Yuta Hatori с соавт. [15] показывают решающую роль домена I CCS в конкуренции за ограниченный цитозольный пул меди, другими словами ATOX1 способствует транспорту цитозольной меди к секреторному пути, где происходят созревание большинства медных ферментов и удаление избыточной меди, а при дефиците меди CCS активируется и обменивает медь с ATOX1, чтобы выделить металл для созревания SOD1. Домен II гомологичен SOD1, который является белком-мишенью CCS: у него есть сайты связывания металлов для меди и цинка, сходные с SOD1, но лишённые каталитически важных остатков. Домен II необходим для гетеродимеризации с SOD1 и облегчает вставку меди в SOD1. Таким образом, фермент CCS благодаря двум доменам захватывает медь и переносит к SOD1 [15].

COX17 (Cytochrome C Oxidase 17) — белок размером 7 кДа, служит медным шапероном для митохондриальной цитохром С оксидазы (ССО). Митохондриям требуется медь для созревания ССО, которая катализирует терминальную реакцию дыхательной цепи и встроена во внутреннюю мембрану митохондрий. Доставка меди осуществляется с помощью ряда митохондриальных медных шаперонов, включая SCO1 (Synthesis of Cytochrome C Oxidase 1), SCO2 (Synthesis of Cytochrome C Oxidase 2) и COX11 (Cytochrome C Oxidase Copper Chaperone COX11). Белок COX17 наблюдался как в цитозоле, так и в межмембранном пространстве митохондрий (IMS). SCO1 и SCO2 представляют собой гомологичные мембранные белки с тиоредоксиноподобным доменом, обращенным к IMS. COX17 захватывает один ион меди и переносит металл к SCO1 и COX11, которые оба участвуют во встраивании меди в ССО. Известно, что SCO1 получает медь от COX17 в реакции, связанной с переносом электрона, а затем доставляет медь в ССО посредством специфических белок-белковых взаимодействий. SCO2 также получает медь от COX17, но действует как оксидоредуктаза, восстанавливая металл, координирующий остатки Cys ССО, при этом связывание меди с SCO2 значительно облегчает окислительно-восстановительную реакцию [11].

CTR1 (Copper Transporter 1) — высокоаффинный переносчик также известный как SLC31A1, который доставляет медь через плазматическую мембрану. CTR1 существует в плазматической мембране в виде гомотримера с внеклеточным N-концевым участком, тремя трансмембранными спиралями и внутриклеточным C-концом [16].

Таким образом, общая схема метаболизма меди в норме выглядит следующим образом: клетки связывают медь посредством глутатиона, который способствует проникновению меди в клетки за счет облегчения диссоциации меди от высокоаффинного переносчика меди CTR1, или переносчиком двухвалентного металла 1 (DMT1). Белок CTR1 переносит медь из желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) в энтероциты. Далее медь поступает в систему воротной вены и поглощается гепатоцитами. В клетках печени медь включается в церулоплазмин, который секретируется в кровоток для последующего распределения по всему организму. Часть меди включается в состав ферментов гепатоцитов или связывается с металлотионеинами. Примерно 30% меди, поглощенной гепатоцитами, сразу экскретируется через желчь. В клетки всех типов медь поступает через CTR1. Будучи связанной с тиоловыми лигандами, медь перемещается по различным внутриклеточным направлениям, т.е. к медь-зависимым ферментам в цитозоле, митохондриях и просвете везикулярных компартментов. В цитозоле она связывается Cu(I)-шаперонами, которые обеспечивают без-

опасный транспорт и доставку ионов меди к местам формирования купроэнзимов: шаперон CCS участвует в передаче меди к SOD1, шаперон COX17 — в митохондрии к цитохромоксидазе и шаперон ATOX1 — в транс-сети Гольджи к медь-транспортирующим АТФаза А- и Р-типа. В ответ на повышение меди в транс-сети Гольджи активируется фермент АТР7А, что влечет высвобождение меди через воротную вену в печень. АТР7В в свою очередь переносит связанную с церулоплазмином медь в кровь, а также выводит избыток меди в желчь (рис. 2).

Повсеместно экспрессируемый белок ATOX1 кодируется одноименным геном. Ген *ATOX1* (NM_004045.3, NP_004036.1, antioxidant 1 copper chaperone, ранее *HAH1*) кодирует белок транспорта меди ATOX1, расположен на 5-й хромосоме в положении 5q33.1, содержит 4 экзона и 3 интрона. Длины экзонов гена *ATOX1* составляют 59 пн — первый экзон, 76 пн — второй, 171 пн — третий и 136 пн — четвертый. Три интрона в гене *ATOX1* имели длину 6764 пн (интрон 1), 5255 пн (интрон 2) и 3320 пн (интрон 3) [7, 17].

Роль гена *ATOX1* в патогенезе нарушения обмена меди можно рассмотреть в двух направлениях — антиоксидантная защита от окислительных повреждений клеток (например, при канцерогенезе) или транспортное регулирование клеточного гомеостаза меди: 1) недостаточное количество поступающей меди в клетки или 2) избыток и накопление меди в клетках, тканях и органах.

ВЛИЯНИЕ ГЕНА *ATOX1* В ПАТОГЕНЕЗЕ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ ПРИ КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ

Рак представляет собой многофакторную совокупность заболеваний, которые включают неконтролируемый рост клеток с последующей инвазией раковых клеток, диссеминацией и образованием вторичных опухолей в локальных и отдаленных местах [18]. Медь способствует ангиогенезу опухоли, она участвует в реакциях с повышенным окислительно-восстановительным потенциалом, которые приводят к образованию продуктов окисления и окислительному стрессу [19]. Существуют данные, согласно которым раковая ткань и сыворотка раковых больных содержат повышенное количество меди. Медь активирует метаболические и пролиферативные ферменты, повышающие способность раковых клеток к метастазированию, а также может являться диагностическим/прогностическим маркером канцерогенеза [20]. Было отмечено снижение уровня меди в сыворотке во время ремиссии и повышение — при рецидивах, в контексте хронического лимфолейкоза, неходжкинской лимфомы, множественной миеломы и лимфомы Ходжкина, повышение также отмечалось при ретикулокле-

точной саркоме, бронхогенном и плоскоклеточном раке гортани, раке шейки матки, молочной железы, желудка и легких [21]. Существует огромное количество исследований, направленных на разработку медь-специфических хелаторов в качестве средств для подавления этих процессов посредством контроля ангиогенеза. Хелаторы меди удаляют ионы меди из организма, что замедляло рост и метастазирование рака путем ингибирования васкуляризации поражений [22].

Белок ATOX1 обладает активностью фактора транскрипции и играет жизненно важную роль в пролиферации раковых клеток посредством участия в процессах ангиогенеза. Сообщалось, что ATOX1 способствует экспрессии циклина D1 и NADPH-оксидазы p47 phox, что приводит к усилению пролиферации и генерации активных форм кислорода [23]. Jana Arundhati с соавт. указывают на увеличение экспрессии гена *ATOX1* у пациентов с колоректальным раком, а также его значение на метастазирование, и предлагают этот ген в качестве терапевтической мишени в лечении рака прямой кишки [24]. Аналогичные данные показывают исследования в области рака молочной железы, в которых была показана роль гена в метастазировании опухоли. Авторы предлагают использовать анализ уровня экспрессии гена *ATOX1* в качестве потенциального прогностического биомаркера для ER-позитивных подтипов и ранних стадий рака молочной железы [18, 25]. Ген *ATOX1* значительно экспрессировался в образцах пациентов с меланомой, вызванной мутацией в гене *BRAF*. Было установлено, что *ATOX1* необходим для роста меланомы с положительной мутацией *BRAF*, а его генетическая делеция или фармакологическое ингибирование связаны с подавлением активации онкогенного митоген-активируемого протеинкиназного пути (MAPK) [26].

ГЕН *ATOX1* И ДЕФИЦИТ МЕДИ В КЛЕТКАХ ПРИ БОЛЕЗНИ МЕНКЕСА

Болезнь Менкеса (OMIM 309400, болезнь курчавых волос, синдром затылочных рогов, БМ) представляет собой сцепленное с X-хромосомой мультисистемное летальное нарушение метаболизма меди, связанное с мутациями в гене *ATP7A*, характеризующееся ранней задержкой роста, своеобразным оволосением и фокальной мозговой и мозжечковой дегенерацией. Частота заболевания по некоторым исследованиям варьирует от 1 на 40000 до 1 на 354507 населения [27].

Описан широкий спектр клинических проявлений, связанный с нарушением гомеостаза меди вследствие мутаций в гене *ATP7A*. Наиболее часто описывают три клинические группы — болезнь Менкеса, синдром затылочного рога и X-сцепленная дистальная спинальная мышечная атрофия 3-го типа. Помимо основных групп существу-

ют промежуточные формы болезни Менкеса — длительно сохраняющаяся классическая болезнь Менкеса (Long Surviving Menkes), умеренная (Moderate Menkes) и мягкая (Mild Menkes) формы [28].

За счет неспецифических клинических и биохимических признаков в первые дни жизни болезнь Менкеса чаще всего диагностируют после появления выраженных симптомов в возрасте от 6–10 недель. Ярким признаком заболевания является наличие структурных изменений волос — так называемые “курчавые волосы”, представленные повышенной ломкостью волос (trichorexis nodosa) и монилетриксом (веретенообразные волосы). Поздними проявлениями болезни являются слепота, субдуральная гематома, дыхательная недостаточность. Большинство пациентов умирают к трем годам жизни вследствие инфекционных, сосудистых осложнений или от самой неврологической дегенерации.

Патогенный механизм — аномальный метаболизм меди, вызванный мутацией в гене *ATP7A*. Ген *ATP7A* длиной 8.5 тпн расположен в регионе Xq13.3, имеет 23 экзона, кодирует 1500 аминокислот и широко экспрессируется в головном мозге, почках, легких и мышцах [29]. Ген кодирует энергозависимый транспортирующий Cu^{++} альфа-полипептид, который циклически переключается между транспортной сетью Гольджи и плазматической мембраной. Мутации в гене *ATP7A* приводят к накоплению меди в кишечнике и нарушению всасывания меди, что ведет к дефициту меди в организме, в том числе в головном мозге. Мутации могут влиять на синтез белка, стабильность белка, доставку и локализацию, каталитическую активность и посттрансляционные модификации. Предполагается, что в трети случаев болезни Менкеса обнаруживаются новые мутации. На сегодняшний день известно около 170 различных мутаций, влияющих на *ATP7A* [30]. Дефицит меди приводит к снижению активности дофамин- β -гидроксилазы (DBH), которая превращает дофамин в норадреналин (важный нейротрансмиттер в норадреналиnergических нейронах), пептидил- α -амидирующая (РАМ) монооксигеназы (необходима для нейрогенеза и выживания нейронов) и приводит к активации N-метил-D-аспаратного рецептора (NMDAR), вызывая дегенеративную потерю нейронов у пациентов с БМ [31].

ATP7A имеет шесть металлосвязывающих доменов, посредством которых происходит связь с медью, домены 1–4 выполняют регуляторную функцию, а также через эти домены происходит взаимодействие между *ATP7A* и *ATOX1*. На мышинных моделях было показано, что разрушение мышинного гомолога *Atox1* приводит к перинатальной смертности и биохимическим аномалиям, сходным с мышинными моделями БМ. Клетки с дефицитом *Atox1* накапливали высокие уровни внут-

риклеточной меди, и метаболические исследования показали, что этот дефект был вызван нарушением клеточного оттока меди. Таким образом, авторы пришли к выводу, что продукты генов *АТОХ1* и *АТР7А* являются неотъемлемой частью транспорта меди у млекопитающих и что мутации в любом из них могут вызывать сходные клинические и биохимические фенотипы [32, 33].

ГЕН *АТОХ1* И ИЗБЫТОЧНОЕ НАКОПЛЕНИЕ МЕДИ В КЛЕТКАХ ПРИ БОЛЕЗНИ ВИЛЬСОНА—КОНОВАЛОВА

Одним из примеров нарушения метаболизма меди по причине избыточного накопления меди в клетках и тканях является такое заболевание как болезнь Вильсона—Коновалова.

Болезнь Вильсона—Коновалова (OMIM 277900, гепатолентикулярная дегенерация, гепатocereбральная дистрофия, БВК) — тяжелое прогрессирующее наследственное заболевание, передающееся по аутосомно-рецессивному типу. В основе патогенеза БВК лежит нарушение выведения меди из организма, приводящее к избыточному накоплению этого микроэлемента в тканях и сочетанному поражению паренхиматозных органов и головного мозга [34].

Заболевание может быть диагностировано в любом возрасте, чаще это 5–35 лет. У большинства пациентов детского или подросткового возраста с БВК обычно наблюдаются печеночные проявления (небольшие изменения биохимических показателей, печеночная недостаточность). По мере прогрессирования заболевания у пациентов могут проявляться признаки и симптомы хронического заболевания печени, гепатоспленомегалии или цирроза печени [35].

В возрасте до 10 лет нервно-психические симптомы редко наблюдаются у детей, однако у 5–15% детей с печеночными проявлениями также могут быть неврологические симптомы. БВК влияет на ЦНС в основном через дисфункцию экстрапирамидной системы и бульбарный синдром. На ранних стадиях заболевания наиболее частым симптомом является дизартрия (73–91% случаев неврологических проявлений) [36]. Впоследствии появляются двигательные расстройства, такие как тремор, паркинсонизм или непроизвольные движения, возможны дисфункция мозжечка, хорея и гиперрефлексия. Психиатрические симптомы могут варьироваться от поведенческих изменений и расстройств настроения до психозов; кроме того, аффективные расстройства встречаются чаще, чем расстройства психотического спектра [35].

Наиболее известным диагностическим симптомом БВК является кольцо Кайзера—Флейшера, поражающее десцеметову мембрану роговицы. У

пациентов с неврологическими проявлениями в 95% случаев наблюдается кольцо Кайзера—Флейшера, у пациентов с печеночными проявлениями — в 50% [34].

Заболевание вызывается гомозиготными или сложными гетерозиготными мутациями (наличие двух разных мутантных аллелей) в гене *АТР7В*, кодирующем трансмембранную транспортирующую медь АТФазу, которая обеспечивает экскрецию меди в желчь и доставляет медь для функционального синтеза церулоплазмينا. В результате мутаций в гене *АТР7В* происходит снижение функциональности фермента и АТФаза теряет способность переносить медь к церулоплазмину. Вследствие этого происходит уменьшение экстракции меди в желчь, перегрузки гепатоцитов и головного мозга медью, что влечет за собой печеночные и неврологические расстройства. В настоящее время выделяют более 800 мутаций в гене *АТР7В*. Большинство из них представляют собой миссенс-мутации, небольшие делеции/инсерции в кодирующей области или мутации сплайс-соединения. “Горячие точки” мутаций существуют, но значительно разнятся среди популяций. Среди европеоидов наиболее распространенной мутацией у пациентов с БВК является мутация Н1069Q (встречается в 30–73% случаев) [37].

На данный момент ген *АТР7В* является единственным идентифицированным геном, мутации в котором приводят к развитию болезни Вильсона—Коновалова. Однако в некоторых исследованиях у пациентов с яркой клинической симптоматикой БВК и с отсутствием двух выявленных мутаций в гене *АТР7В* предполагают существование другого причинного гена, кроме *АТР7В* [38]. Недавние исследования показали, что на клиническую картину БВК помимо мутаций в гене *АТР7В* могут оказывать влияние мутации в так называемых генах-модификаторах. Гены-модификаторы — это группа генов, которые участвуют в патогенезе заболевания и могут как усугублять, так и облегчать фенотипическое действие причинного гена. Среди генов-модификаторов БВК выделяют гены *АТР7А* и *АРОЕ*. Известен спектр генов, которые продуцируют белки, участвующие в метаболизме меди, что приводит к предположению вовлеченности этих генов и в патогенез такого заболевания как БВК, но уже в роли генов-модификаторов — это такие гены как *HFE*, *COMMD1*, *XIAP*, *PRNP*, *MTHFR*, *ESD*, *INO80* [39]. Кроме перечисленных к генам-модификаторам также можно отнести ген *АТОХ1*.

Важным аспектом остается идентификация генетических вариантов *АТОХ1* при болезни Вильсона—Коновалова. Все больше появляется публикаций, посвященных поиску полиморфных вариантов или мутаций, которые могут привести к изменению функции гена *АТОХ1*.

Существует предположение, что возникновение мутаций в гене *ATP7B* у больных БВК, которые влияют на его взаимодействие с *ATOX1* (с.254G>T (p.Gly85Val); с.1475T>C (p.Leu492Ser) и с.1772G>A (p.Gly591Asp)), предполагают важную роль шаперона в патогенезе заболевания [40]. Также прогнозируется, что мутации, приводящие к снижению функции белка *ATOX1*, будут влиять на гомеостаз меди и патогенез БВК, вызывая различные клинические проявления болезни.

Некоторые исследования опровергают связь определенных замен с патогенезом или клиническим полиморфизмом БВК. Так, авторы исследования 2008 г. выдвинули предположение о возможной модифицирующей роли двух полиморфных вариантов (5'UTR-99T>C и 5'UTR-68C>T) в гене *ATOX1*, однако более позднее исследование другого коллектива авторов, проведенное для 112 пациентов с БВК, не показало значимой ассоциации с вариантом 5'UTR-99T>C в гене *ATOX1* [41, 42]. В 2019 г., в Индии был проведен поиск мутаций в гене *ATOX1* у 50 человек с БВК и 60 человек из контрольной группы, и в опубликованных материалах было выдвинуто предположение о выявлении нового кандидатного полиморфизма гена *ATOX1* в качестве модификатора при БВК [43]. Исследователями было идентифицировано четыре новых полиморфизма в гене *ATOX1*, среди которых был и вариант кодирующей области с.40G>A, p.(Gly14Ser). Выявленный вариант p.(Gly14Ser) наблюдался у пациента с БВК с ранним началом заболевания, сниженным уровнем церулоплазмينا в сыворотке и поражением печени и головного мозга, при этом такая клиника отсутствовала у другого пациента с БВК и идентичной мутацией *ATP7B*, но с нормальным *ATOX1*. Кроме того, компьютерный анализ предсказал, что замена p.(Gly14Ser) в критическом мотиве связывания меди (MXCXG14C) белка влияет на белок-белковое взаимодействие, связанное с обменом и переносом меди между *ATOX1* и *ATP7B-MBD4*. К сожалению, нет данных о дальнейших экспериментах проверки влияния данной мутации на патогенез меди, из-за чего сложно сделать однозначный вывод о подтвержденной модифицирующей роли варианта p.(Gly14Ser).

МОДЕЛИ ИССЛЕДОВАНИЯ ПАТОГЕНЕЗА МЕДИ НА ЖИВОТНЫХ

В настоящее время доступно несколько естественных и генетически модифицированных моделей животных для исследования патогенеза и последующей адресной терапии болезни Вильсона—Коновалова. Так, описаны четыре животных модели БВК с дефектами гена *ATP7B*: 1) крысы линии “Long-Evans cinnamon” (LEC), 2) мыши линии “Toxic milk” (tx), 3) трансгенные мыши с нокаутом *Atp7b* и 4) лабрадор-ретривер [44]. Все

животные модели обладают высокой гомологией гена *Atp7b* с геном *ATP7B* человека, что позволяет использовать данных животных в качестве модельных для изучения БВК.

Крысы линии LEC достаточно широко и долго использовались в качестве основных животных моделей БВК. У этих крыс известна сходная делеция гена *Atp7b*, который очень похож на человеческий ген *ATP7B*, что приводит к накоплению избытка меди в печени и одновременному снижению выхода меди в желчь [44–47].

Для мышей линии “Toxic milk” известна только одна точечная мутация Met1386Val в гене *Atp7b*, что приводит к неправильной локализации и потере активности транспорта меди [48–50]. Наблюдаемые биохимические изменения (низкий уровень меди в сыворотке и церулоплазмине) при данном генетическом дефекте подобны биохимическим изменениям у людей с БВК, в связи с чем долгое время именно мыши линии “Toxic milk” служили модельными животными для разработки хелатной терапии, направленной на коррекцию уровня меди [51].

У лабрадора-ретривера мутация *Atp7b* (замена аргинина на глутамин на С-конце) также приводит к избытку накопления меди в печени, что представляет собой еще одну несомненно важную животную модель изучения БВК [52, 53].

Однако крысы линии “Long-Evans cinnamon”, мыши линии “Toxic milk” и лабрадор-ретриверы не использовались в качестве модельных животных для изучения изолированной роли гена *ATOX1* в патогенезе БВК, но использовались как модель *in vivo* для клинических испытаний тех хелаторов, точкой приложения которых является взаимодействие с металлошаперонами, в том числе и *ATOX1*.

Известно, что именно трансгенные мыши являются основным инструментом для изучения физиологической роли переносчиков меди: Ctrl1, Atox1, медного шаперона для Cu/Zn superoxide dismutase (Ccs) и Cox17. Так, в 2001 г. I. Hamza с соавт. [32] проанализировали линию мышей с нокаутом гена *Atox1*. Мыши Atox1(-/-) не развивались сразу после рождения: 45% детенышей умирали до отлучения от груди. У выживших животных наблюдались такие симптомы как задержка роста, дряблость кожи, гипопигментация и судороги из-за перинатального дефицита меди. Дефицит Atox1 у матери заметно увеличивал тяжесть фенотипа Atox1(-/-), что приводило к увеличению перинатальной смертности, а также к серьезной задержке роста и врожденным порокам развития среди выживших потомков Atox1(-/-). Кроме того, клетки с дефицитом Atox1 накапливали высокие уровни внутриклеточной меди, и метаболические исследования показали, что этот дефект был вызван нарушением клеточного оттока меди [32].

Кроме того, проведенное в 2009 г. исследование гомеостаза меди на фибробластах мышей, обработанных siRNA *Atox1*, показало аномальное повышение концентрации меди в клетках [54].

РОЛЬ ГЕНА *АТОХ1* ПРИ ЛЕЧЕНИИ ЗАБОЛЕВАНИЙ, СВЯЗАННЫХ С НАРУШЕНИЕМ МЕТАБОЛИЗМА МЕДИ

Существующее патогенетическое лечение БВК становится более персонализированным при появлении новых данных о мутациях не только в гене *АТР7В*, но и в генах-модификаторах, таких как *АТОХ1*. Основным подходом к лечению БВК является комбинированная терапия, состоящая из выведения повышенного количества меди с использованием хелаторов и последующего ограничения поступления меди с помощью диетотерапии. На сегодняшний день к хелаторам при БВК относят: соли цинка, D-пеницилламин, триентин или триэтилентетрамин (ТЭТА), димеркаптоянтарную кислоту и димеркаптопропансульфоновую кислоту, а также тетратиомолибдаты (ТТМ): тетратиомолибдат аммония и тетратиомолибдат бисхолина. Однако большинство применяемых хелаторов неспецифичны для меди и могут связывать другие металлы даже с более высокой avidностью. Например, триентин предположительно образует комплексы с железом и таким образом может вызывать побочные эффекты, такие как сидеробластная анемия.

Препарату ТТМ уделяется больше внимания, чем другим препаратам, хелатирующим медь, поскольку известна его двойная роль: во-первых, предотвращение образования АФК, происходящих из стабильного неокислительно-активного кластера Cu/ТТМ, и, во-вторых, ингибирование переноса меди в места мишени или инактивация многих медь-зависимых ферментов, важных для клеточного метаболизма (поддержание и пролиферация), путем образования тройных комплексов белок—Cu—ТТМ [55–57].

Ярким примером является связь ТТМ с цитоплазматическим транспортным белком меди *Atox1* с образованием стабильного комплекса ТТМ—*Atox1*. Полученный продукт ингибирует перенос меди в раковые клетки, что требует избытка меди и значительно снижает пролиферацию раковых клеток [20].

Впервые препарат ТТМ использовался в качестве потенциального препарата против меди для лечения БВК еще в 1984 г. [58, 59]. ТТМ известен как Cu-хелаторный препарат на основе серы, который в первую очередь разработан для лечения БВК, а в настоящее время также для лечения нескольких типов рака [60–62].

Несколько моделей на животных и исследования на людях показали, что ТТМ является без-

опасным, хорошо переносимым, антиоксидантным и менее токсичным препаратом [63, 64].

Кроме того, была исследована связь между медью, раком и/или ангиогенезом [65–67]. Основываясь на экспериментальных данных, медь является важным элементом для ангиогенеза во время образования новых кровеносных сосудов, в которых развиваются опухолевые/раковые клетки. И так как повышенный уровень меди является признаком рака, поэтому медь-зависимые ферменты, а также ангиогенные факторы считаются многообещающими терапевтическими мишенями для лечения рака [20, 57, 67].

ПЕРСПЕКТИВЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ГЕНА *АТОХ1* В ПАТОГЕНЕЗЕ НАРУШЕНИЙ МЕТАБОЛИЗМА МЕДИ

Наблюдаемое малое количество исследований роли гена *АТОХ1* на модельных системах, как *in vitro*, так *in vivo*, дают определенный задел для дальнейшего изучения гомеостаза меди в норме и патологии. В эпоху развития молекулярно-генетических и цитогенетических технологий наиболее перспективным направлением нам представляется изучение функций гена *АТОХ1* на индуцированных плюрипотентных стволовых клетках (ИПСК), с возможностью не просто “внести” мутацию в данный ген, но и создать определенные условия для исследования метаболизма меди. Например, изучить изменение функции гена *АТОХ1* при создании определенных экстремальных условий, таких как недостаток или избыток меди в клетке. Существующие единичные работы с использованием подобной модели базировались на работе “здорового” гена *АТОХ1*, без учета генетических вариаций как в самом металлошапероне, так и в генах — акцепторах меди. Так, в 2013 г. Е.В. Магуон и др. провели эксперимент по захвату меди шаперонами *in vivo*, изучая роль глутатиона как связывающего медь посредника [68]. Выдвинутая ими гипотеза гласила, что если шапероны связывают доставленную в клетки медь, то нокаут или сверхэкспрессия шаперонов должны повлиять на начальную скорость поглощения меди, обусловленную переносом в клетки с помощью трансмембранного белка-импортера CTR1. Однако, изучив нокаут и сверхэкспрессию таких шаперонов меди как *АТОХ1* и *ССS*, влияния на начальную скорость меди в клетках линии НЕК-293 обнаружено не было.

Кроме того, например, отмечено явление синергичности генов *АТОХ1* и *АТР7В* при таком вирусном заболевании как лихорадка Зика (вирус Зика из рода *Flavivirus*). Исследование 2021 г. показало, что вирус Зика у человека приводит к подавлению белка АТР7В, что опосредует высвобождение меди и при этом также наблюдается активация механизмов, которые противодействуют

высоким уровням меди, включая синтез медных шаперонов, в том числе *АТОХ1* [69]. Наблюдаемое явление наглядно демонстрирует эффект саморганизации клетки в распределении меди при неблагоприятных обстоятельствах.

Неоднозначность роли гена *АТОХ1* в патогенезе медь-зависимых патологий может быть обусловлена недостаточной изученностью данного гена. Нами были собраны все доступные данные на сегодняшний день, которые свидетельствуют о возможной роли этого гена в развитии заболеваний, обусловленных нарушениями метаболизма меди. Кроме того, накопленные данные указывают на перспективность дальнейших исследований металлошаперонов и их роли в патогенезе обмена меди, в том числе в рамках персонализированной медицины.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ № МК-6225.2021.1.4.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта животных.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Linder M.C.* Biochemistry of Copper // Biochem. Copp. Springer US. 1991.
<https://doi.org/10.1007/978-1-4757-9432-8>
2. *Van Den Berghe P.V.E., Klomp L.W.J.* New developments in the regulation of intestinal copper absorption // Nutr. Rev. 2009. V. 67. № 11. P. 658–672.
<https://doi.org/10.1111/J.1753-4887.2009.00250.X>
3. *Gaetke L.M., Chow-Johnson H.S., Chow C.K.* Copper: toxicological relevance and mechanisms // Arch. Toxicol. 2014. V. 88. № 11. P. 1929–1938.
<https://doi.org/10.1007/S00204-014-1355-Y>
4. *Korte J.J., Prohaska J.R.* Dietary copper deficiency alters protein and lipid composition of murine lymphocyte plasma membranes // J. Nutr. 1987. V. 117. № 6. P. 1076–1084.
<https://doi.org/10.1093/JN/117.6.1076>
5. *Leah Harris Z., Gitlin J.D.* Genetic and molecular basis for copper toxicity // Am. J. Clin. Nutr. 1996. V. 63. № 5. P. 836–841.
<https://doi.org/10.1093/AJCN/63.5.836>
6. *O'Halloran T.V., Culotta V.C.* Metallochaperones, an intracellular shuttle service for metal ions // J. Biol. Chem. 2000. V. 275. № 33. P. 25057–25060.
<https://doi.org/10.1074/JBC.R000006200>
7. *Klomp L.W.J., Lin S.J., Yuan D.S. et al.* Identification and functional expression of HAH1, a novel human gene involved in copper homeostasis // J. Biol. Chem. 1997. V. 272. № 14. P. 9221–9226.
<https://doi.org/10.1074/JBC.272.14.9221>
8. *Portnoy M.E., Rosenzweig A.C., Rae T. et al.* Structure-function analyses of the ATX1 metallochaperone // J. Biol. Chem. 1999. V. 274. № 21. P. 15041–15045.
<https://doi.org/10.1074/JBC.274.21.15041>
9. *Kelner G.S., Lee M.H., Clark M.E. et al.* The copper transport protein Atox1 promotes neuronal survival // J. Biol. Chem. 2000. V. 275. № 1. P. 580–584.
<https://doi.org/10.1074/JBC.275.1.580>
10. *Hatori Y., Clasen S., Hasan N.M. et al.* Functional partnership of the copper export machinery and glutathione balance in human cells // J. Biol. Chem. 2012. V. 287. № 32. P. 26678–26687.
<https://doi.org/10.1074/JBC.M112.381178>
11. *Hatori Y., Lutsenko S.* The role of copper chaperone atox1 in coupling redox homeostasis to intracellular copper distribution // Antioxidants (Basel, Switzerland). 2016. V. 5. № 3.
<https://doi.org/10.3390/ANTIOX5030025>
12. *Walker J.M., Tsivkovskii R., Lutsenko S.* Metallochaperone Atox1 transfers copper to the NH2-terminal domain of the Wilson's disease protein and regulates its catalytic activity // J. Biol. Chem. 2002. V. 277. № 31. P. 27953–27959.
<https://doi.org/10.1074/JBC.M203845200>
13. *Culotta V.C., Klomp L.W.J., Strain J. et al.* The copper chaperone for superoxide dismutase // J. Biol. Chem. Elsevier. 1997. V. 272. № 38. P. 23469–23472.
<https://doi.org/10.1074/JBC.272.38.23469>
14. *Petzoldt S., Kahra D., Kovermann M. et al.* Human cytoplasmic copper chaperones Atox1 and CCS exchange copper ions *in vitro* // Biometals. 2015. V. 28. № 3. P. 577–585.
<https://doi.org/10.1007/S10534-015-9832-1>
15. *Hatori Y., Inouye S., Akagi R.* Thiol-based copper handling by the copper chaperone Atox1 // IUBMB Life. Blackwell Publ. Ltd. 2017. V. 69. № 4. P. 246–254.
<https://doi.org/10.1002/iub.1620>
16. *Curnock R., Cullen P.J.* Mammalian copper homeostasis requires retromer-dependent recycling of the high-affinity copper transporter 1 // J. Cell Sci. 2020. V. 133. № 16.
<https://doi.org/10.1242/JCS.249201>
17. *Itoh S., Ha W.K., Nakagawa O. et al.* Novel role of antioxidant-1 (Atox1) as a copper-dependent transcription factor involved in cell proliferation // J. Biol. Chem. 2008. V. 283. № 14. P. 9157–9167.
<https://doi.org/10.1074/JBC.M709463200>
18. *Blockhuys S., Wittung-Stafshede P.* Roles of copper-binding proteins in breast cancer // Int. J. Mol. Sci. 2017. V. 18. № 4.
<https://doi.org/10.3390/IJMS18040871>
19. *Antoniades V., Sioga A., Dietrich E.M. et al.* Is copper chelation an effective anti-angiogenic strategy for cancer treatment? // Med. Hypotheses. 2013. V. 81. № 6. P. 1159–1163.
<https://doi.org/10.1016/J.MEHY.2013.09.035>
20. *Denoyer D., Masaldan S., La Fontaine S. et al.* Targeting copper in cancer therapy: “Copper That Cancer” //

- Metallomics. 2015. V. 7. № 11. P. 1459–1476.
<https://doi.org/10.1039/C5MT00149H>
21. *Gupte A., Mumper R.J.* Elevated copper and oxidative stress in cancer cells as a target for cancer treatment // *Cancer Treat. Rev.* 2009. V. 35. № 1. P. 32–46.
<https://doi.org/10.1016/J.CTRV.2008.07.004>
 22. *Doñate F., Juarez J.C., Burnett M.E. et al.* Identification of biomarkers for the antiangiogenic and antitumour activity of the superoxide dismutase 1 (SOD1) inhibitor tetrathiomolybdate (ATN-224) // *Br. J. Cancer.* 2008. V. 98. № 4. P. 776–783.
<https://doi.org/10.1038/SJ.BJC.6604226>
 23. *Wang J., Luo C., Shan C. et al.* Inhibition of human copper trafficking by a small molecule significantly attenuates cancer cell proliferation // *Nat. Chem.* 2015. V. 7. № 12. P. 968–979.
<https://doi.org/10.1038/nchem.2381>
 24. *Jana A., Das A., Krett N.L. et al.* Nuclear translocation of Atox1 potentiates activin A-induced cell migration and colony formation in colon cancer // *PLoS One.* 2020. V. 15. № 1.
<https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0227916>
 25. *Blockhuys S., Brady D.C., Wittung-Stafshede P.* Evaluation of copper chaperone ATOX1 as prognostic biomarker in breast cancer // *Breast Cancer.* 2020. V. 27. № 3. P. 505–509.
<https://doi.org/10.1007/S12282-019-01044-4>
 26. *Kim Y.J., Bond G.J., Tsang T. et al.* Copper chaperone ATOX1 is required for MAPK signaling and growth in BRAF mutation-positive melanoma // *Metallomics.* 2019. V. 11. № 8. P. 1430–1440.
<https://doi.org/10.1039/C9MT00042A>
 27. *Kaler S.G., Ferreira C.R., Yam L.S.* Estimated birth prevalence of Menkes disease and ATP7A-related disorders based on the Genome Aggregation Database (gnomAD) // *Mol. Genet. Metab. Reports.* Elsevier. 2020. V. 24. P. 100602.
<https://doi.org/10.1016/J.YMGMR.2020.100602>
 28. *Horn N., Wittung-Stafshede P.* ATP7A-regulated enzyme metalation and trafficking in the menkes disease puzzle // *Biomedicines.* 2021. V. 9. № 4.
<https://doi.org/10.3390/BIOMEDICINES9040391>
 29. *Vulpe C., Levinson B., Whitney S. et al.* Isolation of a candidate gene for Menkes disease and evidence that it encodes a copper-transporting ATPase // *Nat. Genet.* 1993. V. 3. № 1. P. 7–13.
<https://doi.org/10.1038/NG0193-7>
 30. *Tümer Z., Möller L.B.* Menkes disease // *Eur. J. Hum. Genet.* 2009. V. 18. № 5. P. 511–518.
<https://doi.org/10.1038/ejhg.2009.187>
 31. *Chen J., Jiang Y., Shi H. et al.* The molecular mechanisms of copper metabolism and its roles in human diseases // *Pflugers Arch.* 2020. V. 472. № 10. P. 1415–1429.
<https://doi.org/10.1007/S00424-020-02412-2>
 32. *Hamza I., Faissat A., Prohaska J. et al.* The metallochaperone Atox1 plays a critical role in perinatal copper homeostasis // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2001. V. 98. № 12. P. 6848–6852.
<https://doi.org/10.1073/PNAS.111058498>
 33. *Liu P.C., Koeller D.M., Kaler S.G.* Genomic organization of ATOX1, A human copper chaperone // *BMC Genet. BioMed Central.* 2003. V. 4. № 1. P. 1–4.
<https://doi.org/10.1186/1471-2156-4-4/TABLES/2>
 34. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению болезни Вильсона–Конова-лова (гепатолентикулярная дегенерация). М., 2015.
 35. *Shribman S., Warner T.T., Dooley J.S.* Clinical presentations of Wilson disease // *Ann. Transl. Med.* 2019. V. 7. Suppl. 2. P. S60.
<https://doi.org/10.21037/ATM.2019.04.27>
 36. *Machado A., Chien H.F., Deguti M.M. et al.* Neurological manifestations in Wilson's disease: Report of 119 cases // *Mov. Disord.* 2006. V. 21. № 12. P. 2192–2196.
<https://doi.org/10.1002/MDS.21170>
 37. *Баязутдинова Г.М., Шагина О.А., Поляков А.В.* Молекулярный патогенез болезни Вильсона–Конова-лова // *Мед. генетика.* 2017. Т. 16. № 7. С. 18–24.
 38. *Chang I.J., Hahn S.H.* The genetics of Wilson disease // *Handb. Clin. Neurol.* 2017. V. 142. P. 19.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63625-6.00003-3>
 39. *Postigran A.E., Zhalsanova I.Z., Fonova E.A. et al.* Modifier genes as a cause of Wilson–Konovalov disease clinical polymorphism // *Rus. J. Genet.* 2021. V. 57. № 5. P. 522–532.
<https://doi.org/10.1134/S1022795421050094/TABLES/1>
 40. *Hamza I., Schaefer M., Klomp L.W.J. et al.* Interaction of the copper chaperone HAH1 with the Wilson disease protein is essential for copper homeostasis // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1999. V. 96. № 23. P. 13363–13368.
<https://doi.org/10.1073/PNAS.96.23.13363>
 41. *Simon I., Schaefer M., Reichert J. et al.* Analysis of the human Atox 1 homologue in Wilson patients // *World J. Gastroenterol.* 2008. V. 14. № 15. P. 2383–2387.
<https://doi.org/10.3748/WJG.14.2383>
 42. *Bost M., Piguet-Lacroix G., Parant F. et al.* Molecular analysis of Wilson patients: Direct sequencing and MLPA analysis in the ATP7B gene and Atox1 and COMMD1 gene analysis // *J. Trace Elem. Med. Biol.* 2012. V. 26. № 2–3. P. 97–101.
<https://doi.org/10.1016/J.JTEMB.2012.04.024>
 43. *Kumari N., Kumar A., Pal A. et al.* In-silico analysis of novel p.(Gly14Ser) variant of ATOX1 gene: Plausible role in modulating ATOX1-ATP7B interaction // *Mol. Biol. Rep.* 2019. V. 46. № 3. P. 3307–3313.
<https://doi.org/10.1007/S11033-019-04791-X>
 44. *Reed E., Lutsenko S., Bandmann O.* Animal models of Wilson disease // *J. Neurochem.* 2018. V. 146. № 4. P. 356–373.
<https://doi.org/10.1111/JNC.14323>
 45. *Medici V., Huster D.* Animal models of Wilson disease // *Handb. Clin. Neurol.* 2017. V. 142. P. 57–70.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63625-6.00006-9>
 46. *Wu J., Forbes J.R., Chen H.S. et al.* The LEC rat has a deletion in the copper transporting ATPase gene ho-

- mologous to the Wilson disease gene // *Nat. Genet.* 1994. V. 7. № 4. P. 541–545.
<https://doi.org/10.1038/NG0894-541>
47. Suzuki M., Aoki T. Impaired hepatic copper homeostasis in long-evans Cinnamon rats: Reduced biliary excretion of copper // *Pediatr. Res.* 1994. V. 35. № 5. P. 598–601.
<https://doi.org/10.1203/00006450-199405000-00012>
 48. Rauch H. Toxic milk, A new mutation affecting copper metabolism in the mouse // *J. Hered.* 1983. V. 74. № 3. P. 141–144.
<https://doi.org/10.1093/OXFORDJOURNALS.JHERED.A109751>
 49. La Fontaine S., Theophilos M.B., Firth S.D. et al. Effect of the toxic milk mutation (tx) on the function and intracellular localization of Wnd, the murine homologue of the Wilson copper ATPase // *Hum. Mol. Genet.* 2001. V. 10. № 4. P. 361–370.
<https://doi.org/10.1093/HMG/10.4.361>
 50. Voskoboinik I., Greenough M., La Fontaine S. et al. Functional studies on the Wilson copper P-type ATPase and toxic milk mouse mutant // *Biochem. Biophys. Res.* 2001. V. 281. № 4. P. 966–970.
<https://doi.org/10.1006/BBRC.2001.4445>
 51. Kasai N., Osanai T., Miyoshi I. et al. Clinico-pathological studies of LEC rats with hereditary hepatitis and hepatoma in the acute phase of hepatitis // *Lab. Anim. Sci.* 1990. V. 40. P. 502–505.
 52. Smedley R., Mullaney T., Rumbeiha W. Copper-associated hepatitis in Labrador Retrievers // *Vet. Pathol.* 2009. V. 46. № 3. P. 484–490.
<https://doi.org/10.1354/VP.08-VP-0197-S-FL>
 53. Fieten H., Gill Y., Martin A.J. et al. The Menkes and Wilson disease genes counteract in copper toxicosis in Labrador retrievers: A new canine model for copper-metabolism disorders // *Dis. Model. Mech.* 2016. V. 9. № 1. P. 25–38.
<https://doi.org/10.1242/DMM.020263>
 54. Miyayama T., Suzuki K.T., Ogra Y. Copper accumulation and compartmentalization in mouse fibroblast lacking metallothionein and copper chaperone, Atx1 // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2009. V. 237. № 2. P. 205–213.
<https://doi.org/10.1016/J.TAAP.2009.03.024>
 55. Jomova K., Valko M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease // *Toxicology.* 2011. V. 283. № 2–3. P. 65–87.
<https://doi.org/10.1016/J.TOX.2011.03.001>
 56. Zhang J.W., Liu J.X., Hou H.M. et al. Effects of tetrathiomolybdate and penicillamine on brain hydroxyl radical and free copper levels: a microdialysis study *in vivo* // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2015. V. 458. № 1. P. 82–85.
<https://doi.org/10.1016/J.BBRC.2015.01.071>
 57. Alvarez H.M., Xue Y., Robinson C.D. et al. Tetrathiomolybdate inhibits copper trafficking proteins through metal cluster formation // *Science.* 2010. V. 327. № 5963. P. 331–334.
<https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1179907>
 58. Scheinberg I.H., Walshe J.M. *Orphan Diseases and Orphan Drugs.* Manchester: Univ. Press, 1986. V. 3. 228 p.
 59. Walshe J.M. The conquest of Wilson's disease // *Brain.* 2009. V. 132. Pt 8. P. 2289–2295.
<https://doi.org/10.1093/BRAIN/AWP149>
 60. Brewer G.J. Zinc and tetrathiomolybdate for the treatment of Wilson's disease and the potential efficacy of anticopper therapy in a wide variety of diseases // *Metallomics.* 2009. V. 1. № 3. P. 199–206.
<https://doi.org/10.1039/B901614G>
 61. Weiss K.H., Askari F.K., Czlonkowska A. et al. Bis-choline tetrathiomolybdate in patients with Wilson's disease: An open-label, multicentre, phase 2 study // *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2017. V. 2. № 12. P. 869–876.
[https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(17\)30293-5](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(17)30293-5)
 62. Stremmel W. Bis-choline tetrathiomolybdate as old drug in a new design for Wilson's disease: Good for brain and liver? // *Hepatology.* 2019. V. 69. № 2. P. 901–903.
<https://doi.org/10.1002/HEP.30130>
 63. Goodman V., Brewer G., Merajver S. Control of copper status for cancer therapy // *Curr. Cancer Drug Targets.* 2005. V. 5. № 7. P. 543–549.
<https://doi.org/10.2174/156800905774574066>
 64. Tetrathiomolybdate, a copper chelator for the treatment of Wilson disease, pulmonary fibrosis and other indications – PubMed (Электронный ресурс). URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18683094/> (accessed: 01.04.2022).
 65. Ishida S., McCormick F., Smith-McCune K. et al. Enhancing tumor-specific uptake of the anticancer drug cisplatin with a copper chelator // *Cancer Cell.* 2010. V. 17. № 6. P. 574–583.
<https://doi.org/10.1016/J.CCR.2010.04.011>
 66. Blockhuys S., Celauro E., Hildesjö C. et al. Defining the human copper proteome and analysis of its expression variation in cancers // *Metallomics.* 2017. V. 9. № 2. P. 112–123.
<https://doi.org/10.1039/C6MT00202A>
 67. Urso E., Maffia M. Behind the link between copper and angiogenesis: Established mechanisms and an overview on the role of vascular copper transport systems // *J. Vasc. Res.* 2015. V. 52. № 3. P. 172–196.
<https://doi.org/10.1159/000438485>
 68. Maryon E.B., Molloy S.A., Kaplan J.H. Cellular glutathione plays a key role in copper uptake mediated by human copper transporter 1 // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2013. V. 304. № 8.
<https://doi.org/10.1152/AJPCELL.00417.2012>
 69. Puig-Pijuan T., Souza L.R.Q., Da C. et al. Copper imbalance linked to oxidative stress and cell death during Zika virus infection in human astrocytes // *bioRxiv.* 2021. P. 2021.12.29.474370.
<https://doi.org/10.1101/2021.12.29.474370>

The *ATOX1* Gene Role in Copper Metabolism and in the Copper-Induced Diseases Pathogenesis

I. Zh. Zhalsanova^{a, *}, E. A. Fonova^a, D. I. Zhigalina^a, and N. A. Skryabin^a

^aResearch Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Tomsk, 634050 Russia

*e-mail: irina.zhalsanova@medgenetics.ru

The ATOX1 (Antioxidant Protein 1) is a human copper metal chaperone that plays an important role in cellular copper homeostasis. The protein is responsible for cytosolic copper absorption from CTR1 (copper transporter 1) and transport to the copper pumps in the Trans Golgi network to the ATP7A and ATP7B proteins. This review collected data on the antioxidant role of *ATOX1*, the gene role in the angiogenesis regulation and cancer cell proliferation, and the role in the copper-induced diseases pathogenesis – Wilson's disease and Menkes disease.

Keywords: *ATOX1*, metallochaperones, Wilson's disease, Menkes disease.