

S-ГЛУТАТИОНИЛИРОВАНИЕ И S-НИТРОЗИЛИРОВАНИЕ КАК МОДУЛЯТОРЫ РЕДОКС-ЗАВИСИМЫХ ПРОЦЕССОВ В ОПУХОЛЕВОЙ КЛЕТКЕ

Обзор

© 2023 Е.В. Калинина*, М.Д. Новичкова

Российский университет дружбы народов,
117198 Москва, Россия; электронная почта: kalinina-ev@rudn.ru

Поступила в редакцию 10.02.2023

После доработки 10.03.2023

Принята к публикации 11.03.2023

Развитие окислительного/нитрозативного стресса, связанного с активацией онкогенных путей, является следствием роста уровня генерации активных форм кислорода и азота (АФК/АФА) в опухолевых клетках. Действие АФК/АФА имеет двойственный характер: высокие уровни вызывают клеточную гибель и ограничение опухолевого роста на определенных фазах развития злокачественных новообразований, тогда как низкие концентрации позволяют осуществлять окислительные/нитрозативные модификации ключевых редокс-зависимых остатков в регуляторных белках. Обратимость таких модификаций, как S-глутатионилирование/S-нитрозилирование, которые происходят посредством электрофильной атаки АФК/АФА на нуклеофильные остатки Cys, обеспечивает редокс-переключение активности сигнальных белков и возможность управления процессами пролиферации и программированной гибели. Уровень S-глутатионилированных и S-нитрозилированных белков контролируется балансом между S-глутатионилированием/деглутатионилированием и S-нитрозилированием/денитрозилированием, соотношение которых зависит от клеточного редокс-статуса. Степень S-глутатионилирования и S-нитрозилирования белковых мишеней и их соотношение во многом определяют состояние и направление сигнальных путей в опухолевых клетках. В обзоре рассматриваются особенности реакций S-глутатионилирования и S-нитрозилирования в опухолевых клетках, баланс систем, контролирующих их активность и их связь с редокс-зависимыми процессами и опухолевым ростом.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: активные формы кислорода и азота, окислительный и нитрозативный стресс, S-глутатионилирование и деглутатионилирование, S-нитрозилирование, *транс*-нитрозилирование, денитрозилирование.

DOI: 10.31857/S0320972523070060, EDN: FXFQLC

ВВЕДЕНИЕ

Редокс-баланс, во многом определяемый соотношением между генерацией активных форм кислорода (АФК) и активных форм азота (АФА), с одной стороны, и уровнем антиоксидантной системы — с другой, служит основанием для клеточного редокс-гомеостаза, состояние которого крайне важно для активно-

сти основных биологических процессов, включая пролиферацию/дифференцировку клеток, метаболический гомеостаз и иммунные реакции [1, 2]. АФК/АФА постоянно генерируются как побочные продукты различных клеточных процессов, и изменение их уровня выше физиологического редокс-диапазона способствуют развитию окислительного/нитрозативного стресса [3, 4]. Хронический характер такого

Принятые сокращения: АФА — активные формы азота; АФК — активные формы кислорода; ПФП — пентозофосфатный путь; РПЖ — рак предстательной железы; ЭТЦ — электрон-транспортная цепь; GAPDH — глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа; Grx — гутаредоксин; GSH и GSSG — восстановленный и окисленный глутатион; GSNO — нитрозоглутатион; GSNO — S-нитрозоглутатионредуктаза; NF-κB — ядерный фактор κB; NO — оксид азота; NOS — NO-синтаза; Nrf2 — NF-E2-зависимый фактор 2; PDI — протеин-дисульфид изомераза; PKC — протеинкиназа C; Pr-SH — тиол белка; Pr-SSG — S-глутатионилированный белок; Prx — пероксиредоксин; Srx — сульфиредоксин; Trx — тиоредоксин; TrxR — тиоредоксинредуктаза.

* Адресат для корреспонденции.

стресса приводит к повреждению клеток, тканей и органов и связан с патогенезом различных заболеваний, в том числе онкологических [3].

Отличительной чертой многих злокачественных новообразований и линий опухолевых клеток является развитие «мягкого» окислительного/нитрозативного стресса, который связан с активацией онкогенных путей и появление которого является следствием роста уровня генерации АФК/АФА, частично скомпенсированного адаптивным повышением активности систем их элиминации [2, 5]. Соответственно, продукция АФК/АФА опухолевыми клетками является результатом редокс-зависимой модуляции многочисленных сигнальных путей, влияющих на клеточный метаболизм [6]. Окислительный/нитрозативный стресс может способствовать прогрессированию опухолевого роста вследствие нестабильности генома и хромосомных аномалий с усиленной активацией онкогенов и подавлением онкосупрессоров, изменением метаболизма опухолевых клеток [7]. Повреждение ДНК приводит к гидролизу оснований ДНК с образованием аддуктов, которые нарушают нормальный рост клеток за счет индукции генных мутаций и изменения нормальной транскрипции генов.

Опухолевые клетки адаптируются к окислительному стрессу в краткосрочной перспективе за счет метаболического перепрограммирования и в долгосрочной перспективе — за счет генетического репрограммирования [3]. Существенную роль в системе адаптационного механизма играют реакции посттрансляционной модификации, приводящие к редокс-зависимому изменению функциональной активности белков [8]. Низкие концентрации АФК/АФА, поддерживаемые активностью эндогенной антиоксидантной системы, позволяют осуществлять модификации посредством электрофильной атаки АФК/АФА на нуклеофильные группы аминокислотных остатков в регуляторных белках. Обратимый характер таких реакций обеспечивает редокс-переключения в активности сигнальных белков. Среди редокс-модификаций реакции S-глутатионилирования и S-нитрозилирования, осуществляемые через SH-группу остатков Cys в белке, наиболее часто встречаемые в опухолевых клетках [9–12]. Уровень активности этих реакций во многом связан с прогрессией опухолевого роста.

В настоящем обзоре анализируются особенности реакций S-глутатионилирования и S-нитрозилирования в опухолевых клетках, баланс систем, контролирующих их актив-

ность и их связь с редокс-зависимыми процессами и опухолевым ростом.

ИСТОЧНИКИ ОБРАЗОВАНИЯ АФК В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ. РАЗВИТИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА

Опухолевые клетки характеризуются повышенной генерацией АФК, что в значительной степени инициируется действием физических факторов и онкогенов, инициирующих злокачественную трансформацию [3, 13]. Основными продуцентами АФК в клетке являются митохондрии, где в норме 0,2–2% потока электронов с комплексов I, II и III электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) уходит на образование супероксида ($O_2^{\bullet -}$), который быстро дисмутирует до перекиси водорода (H_2O_2), действующей как «вторичный мессенджер» в передаче сигнала благодаря относительно длительному периоду ее полураспада и способности к диффузии через аквапориновые каналы мембран с последующим образованием в результате реакции Фентона высокореакционноспособных гидроксильных радикалов в присутствии ионов металлов переменной валентности (Fe^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+}). Взаимодействие супероксида с NO приводит к образованию пероксинитрита ($ONOO^-$), способного контролировать сигнальные пути посредством нитрования остатков тирозина в белках-мишенях [1].

Мутации в компонентах ЭТЦ, способствующие усиленному образованию АФК, отмечаются во многих типах опухолей, что подтверждает значимую роль этого механизма в модуляции фенотипа опухолевых клеток [14]. Мутации NADH-дегидрогеназы (комплекс I) млекопитающих (содержащей 44 субъединицы, семь из которых (ND1, ND2, ND3, ND4, ND4L, ND5 и ND6) кодируются митохондриальной ДНК, остальные — ядерным геномом) могут приводить к увеличению продукции $O_2^{\bullet -}$, поддерживая АФК-зависимые пути онкогенеза. Так, мутации гена *ND2* способствуют онкогенезу и метастазированию при раке молочной железы, поджелудочной железы и ротовой полости, карциномах головы и шеи. Подобные корреляции обнаружены для мутаций гена *ND6* при раке легких, гена *ND4* — при остром миелоидном лейкозе и глиобластоме [14, 15]. Мутации гена *ND6*, вызывающие снижение активности комплекса I и повышение образования АФК, усиливают пролиферацию как гипер-, так и гипометастатических сублиний клеток карциномы легких Льюиса, которая подавляется «скэвенджерами» АФК [16].

Мутации, приводящие к снижению функции комплекса II при наследственной феохромоцитоме/параганглиоме и почечно-клеточном раке, вызывают рост образования АФК и подавление синтеза АТФ за счет окислительного фосфорилирования [17, 18].

Действие онкогенов может в значительной степени усиливать образование АФК не только в митохондриях, но и за счет активации прооксидантных ферментов. Онкоген K-RAS не только повышает митохондриальный уровень АФК, вызывая трансформацию ацинарных клеток поджелудочной железы в интраэпителиальную неоплазию поджелудочной железы, но и активирует NOX2 и NOX4 — изоформы NADPH-оксидазы, основной функцией которой является образование $O_2^{\bullet -}$ [19, 20].

Как и RAS, c-Myc индуцирует сложную метаболическую перестройку в опухолевых клетках, что достигается за счет стимуляции гликолиза, митохондриального биогенеза и глутаминолиза [14]. На клеточных линиях глиомы показано, что Myc контролирует программу транскрипции, которая способствует катаболизму глутамината в качестве источника углерода для подпитки цикла трикарбоновых кислот, тем самым поддерживая выработку АФК с помощью ЭТЦ [21], в то же время повышение экспрессии MYC в линии P493-6 В-клеток приводит к увеличению митохондриальной массы, скорости потребления кислорода и показателя активности ЭТЦ, что стимулирует выработку АФК посредством усиленного потока электронов через ЭТЦ [22].

Важным источником АФК в опухолевых клетках, как отмечено выше, является активность изоформ NOX, принадлежащих к семейству NADPH-оксидазы, которое состоит из семи изоферментов (NOX1–NOX5, DUOX1, DUOX2), переносящих электроны от NADPH(H^+) через мембраны на молекулярный кислород с образованием супероксида [23]. Повышенная экспрессия гена изоформы NOX2 отмечается при раке груди, толстой кишки, желудка и простаты, а также при миеломоноцитарном лейкозе [24]. Гиперэкспрессия гена NOX4 установлена в клеточных линиях рака предстательной железы (РПЖ) DU145, PC-3 и LNCaP [25]. Подавление экспрессии гена NOX2 приводит к значительному снижению активности киназы IKK ϵ (inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase subunit epsilon), ключевого игрока в трансформации клеток, инвазивности и развитии химиорезистентности [26]. В зависимости от уровня экспрессии гена и клеточного контекста изоформа NOX5 может играть двойную роль в опухолевых клетках, способствуя гибели

клеток через регуляцию уровня ионов Ca^{2+} и активности киназы c-ABL либо стимулируя рост опухоли при некоторых видах рака через транскрипционные факторы STAT5A (signal transducer and activator of transcription 5A) и CREB (cAMP response element-binding protein). Таким образом, NOX5 может определять баланс клеточной пролиферации и гибели опухолевых клеток при раке кожи, молочной железы и легких [27].

Определенный вклад в развитие окислительного стресса в опухолевых клетках вносят циклооксигеназа (COX) и липоксигеназа (LOX), благодаря активности которых образуются гидроперекиси полиненасыщенных жирных кислот с последующим превращением в высокореакционноспособные бифункциональные электрофилы — 4-гидроксиноненали и 4-оксо-ноненали, образующие сшивки в белках и ДНК [28]. Получены убедительные доказательства, подтверждающие роль катализируемого LOX метаболизма арахидоновой и линолевой кислот в развитии злокачественных новообразований. Образующийся уровень гидроперекисей жирных кислот в процессе метаболизма арахидоновой или линолевой кислоты влияет на регуляцию роста и выживаемость клеток, ангиогенез, клеточную инвазию, метастазирование и иммуномодуляцию. Обнаружено, что изоформа 12-LOX способствует прогрессированию и метастазированию РПЖ [29]. Активность изоформы 5-LOX также играет важную роль в выживании и пролиферации клеток РПЖ, поддерживая высокую экспрессию гена MYC [30].

Существенным источником АФК может служить активность оксидоредуктазы ERO1 (ER oxidoreductin 1), повышенная экспрессия гена которой отмечается во многих типах опухолевых клеток и которая, наряду с протеин-дисульфид-изомеразой (protein disulfide isomerase, PDI), играет основную роль в окислительных реакциях эндоплазматического стресса [31]. В окисленном состоянии PDI выступает в роли дисульфидного донора, в восстановленном — способна к изомеризации дисульфидных связей своих лигандов. Образовавшаяся после взаимодействия с неправильно свернутым белком, восстановленная форма PDI вновь окисляется при взаимодействии с ERO1, последующее окисление которой с использованием FAD как кофактора приводит к образованию H_2O_2 , которая может транспортироваться из ЭПР через аквапорин 8 [32].

Эффект Варбурга, связанный со значительной активацией анаэробного гликолиза, у большинства опухолевых клеток способствует

повышению внутриклеточного уровня АФК за счет снижения антиоксидантного статуса в результате подавления уровня образования пирувата и $\text{NADH}(\text{H}^+)$ с последующим снижением активности митохондриальной трансгидрогеназы и уровня $\text{NADPH}(\text{H}^+)$, что сопровождается снижением содержания в митохондриальном матриксе одного из основных низкомолекулярных антиоксидантов глутатиона (GSH) в результате подавления активности $\text{NADPH}(\text{H}^+)$ -зависимой глутатионредуктазы, восстанавливающей GSH из его окисленной формы (GSSG) [33]. Усиление гликолиза в определенной степени сдерживается благодаря гиперэкспрессии гена пируваткиназы M2, обладающей низкой каталитической активностью, что приводит к накоплению фосфоенолпирувата, частичному подавлению триозофосфатизомеразы и в результате — к активации пентозофосфатного пути (ПФП) [34]. Образующийся в результате повышенный уровень содержания $\text{NADPH}(\text{H}^+)$ сопровождается усилением генерации АФК благодаря активации изоформ NADPH -оксидазы, использующей $\text{NADPH}(\text{H}^+)$ в качестве кофермента. АФК и пируваткиназа M2 образуют отрицательную обратную связь, поддерживающую уровень АФК. Регулируемый АФК транскрипционный фактор HIF-1 α (hypoxia-inducible factor 1-alpha), в свою очередь, изменяет экспрессию генов, некоторые из которых связаны с эффектом Варбурга и сопутствующими ему путями. Обнаружено также, что PKM2 является коактиватором HIF-1 α , который, в свою очередь, регулирует протоонкоген Мус, контролирующий экспрессию генов, связанных с процессами клеточного роста и пролиферации [32, 34]. Изменения, связанные с энергетическим метаболизмом, могут быть связаны с экспрессией генов, регулируемых p53, включая *SCO2*, *TIGAR* и *PIG3* [35].

Повышение уровня АФК в опухолевых клетках также может быть результатом отсутствия регуляции генов антиоксидантных ферментов, опосредованной опухолевыми супрессорами. Примером может служить снижение экспрессии генов изоформ супероксиддисмутазы (*SOD2*), глутатионпероксидазы (*GPX1*) и сестрина (*SESN1*, *SESN2*) после инактивации гена-супрессора опухолевого роста *TP53* [5]. Возможны посттрансляционные модификации, в частности ацетилирование *SOD2* [36], которые придают антиоксидантным ферментам прооксидантные свойства.

Развитие хронического окислительного стресса в опухолевых клетках, определяемого в первую очередь высоким уровнем АФК,

приводит к определенному адаптивному изменению клеточного сигналинга, что сопровождается появлением так называемого «агрессивного» фенотипа опухолевых клеток. Рост АФК вызывает изменение активности фосфатаз PTP (protein tyrosine phosphatase), PTEN (phosphatase and tensin homolog) и MAPK (mitogen-activated protein kinase), тем самым усиливая сигнальные каскады MAPK/ERK (extracellular signal-regulated kinase), PI3K (phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B)/Akt (RAC (Rho family)-alpha serine/threonine-protein kinase) и PKD (protein kinase D)/NF- κ B клеточно-специфическим образом [6]. Для поддержки пролиферативных преимуществ высоких уровней АФК при одновременном снижении риска апоптоза в опухолевых клетках активируются редокс-зависимые факторы транскрипции [3]. Согласно «реостатной» модели развития ответа на окислительный стресс, первый уровень защитного ответа на действие умеренных концентраций АФК обеспечивает активация Nrf2, более высокий уровень АФК вызывает «включение» транскрипционных факторов AP-1 и NF- κ B, дальнейшее повышение образования АФК активирует механизмы апоптоза [3].

Предполагается, что транскрипционный фактор p53, контролирующий клеточный цикл, старение и апоптоз, осуществляет финальный ответ на крайне высокие уровни АФК. Следует отметить, что при чрезмерном окислительном стрессе накопившийся в ядре избыточный Nrf2 может связываться с регуляторной областью промотора гена *Klf9* (Kruppel-like factor 9) и активировать его экспрессию, что приводит к подавлению экспрессии генов антиоксидантных ферментов путем связывания Klf9 с их репрессивными сайтами и вызывает клеточное повреждение в результате роста генерации АФК [37].

Повышение уровня АФК и последующее изменение антиоксидантной системы и редокс-статуса в целом может рассматриваться как важный регулятор клеточного гомеостаза в редокс-зависимой адаптации к хроническому окислительному стрессу, связанной с процессами инициации и прогрессирования злокачественных новообразований, что необходимо учитывать при разработке схем химиотерапии.

РОЛЬ NO В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ. РАЗВИТИЕ НИТРОЗАТИВНОГО СТРЕССА

У млекопитающих и человека оксид азота (NO) в основном синтезируется за счет

NO-синтазы, для которой известны три изоформы: две конститутивные NOS1 (нейрональная, nNOS) и NOS3 (эндотелиальная, eNOS), а также индуцибельная NOS2 (iNOS), обладающие примерно 50%-ной гомологией [38]. Активность конститутивных NOS1 и NOS3 регулируется в основном путем фосфорилирования, S-нитрозилирования, белок-белкового взаимодействия, изменения уровня кальция, благодаря чему во многом поддерживаются стационарные концентрации NO, обеспечивающие регуляцию тканевого гомеостаза [39]. Напротив, индуцибельная NOS2 осуществляет синтез высоких концентраций NO в ответ на действие различных факторов [39]. Кроме того, в матриксе и на внутренней мембране митохондрий обнаружена изоформа mtNOS – гомолог NOS1, исследование влияния которой на функционирование митохондрий интенсивно проводится в последнее время [40].

NOS представляет собой гомодимер, в котором мономеры связываются через тетраэдрический координационный комплекс иона цинка с четырьмя остатками Cys (по два из каждого мономера), располагающимися в них в аминокислотной последовательности CysXXXXCys. Все изоформы активны в виде гомодимеров, димеризация обеспечивается между двумя оксидазными доменами при участии Zn^{2+} с образованием тетратиольного комплекса, в котором от каждого мономера участвует два остатка цистеина. Благодаря этой последовательности NOS связывает субстрат L-аргинин и кофермент тетрагидробиоптерин (BH_4), который облегчает димеризацию, связывание субстрата и необходим для осуществления ферментативной реакции [39]. Каждый мономер содержит два домена: со стороны C-конца – редуктазный, со стороны N-кон-

ца – оксигеназный. Редуктазный домен связывает $NADPH(H^+)$, FAD и FMN, участвующие в переносе электронов на оксигеназный домен соседнего мономера. За счет оксигеназного домена осуществляется димеризация и координируются ион цинка, BH_4 , гем и L-аргинин. Синтезируется NO из L-аргинина при участии кислорода через промежуточный продукт N- ω -гидрокси-L-аргинин с образованием L-цитруллина (рис. 1).

NO, помимо радикальной формы ($NO^\bullet$), может существовать в виде ионов нитрозония (NO^+) или нитроксила (NO^-), что зависит от условий микроокружения. Реакции, в которых участвует NO, можно разделить на две категории: прямые и непрямые [41, 42]. В первом случае NO напрямую реагирует с молекулой-мишенью. Напротив, в непрямых реакциях на первом этапе NO реагирует с кислородом или супероксидом с образованием АФА, которые впоследствии реагируют с биологическими мишенями. Прямые эффекты NO обычно осуществляются при его низких концентрациях, тогда как непрямые взаимодействия происходят при гораздо более высоких концентрациях.

В свою очередь, непрямые взаимодействия могут быть подразделены на две категории: нитрозативный и окислительный стресс [42]. В случае окислительного стресса, характеризующегося высоким уровнем АФК, и прежде всего $O_2^{\bullet-}$, в результате реакции NO с супероксидом образуются пероксинитрит ($ONOO^-$) и диоксид азота (NO_2), которые являются сильными окислителями. Напротив, в случае нитрозативного стресса при условии высокого уровня NO, образующийся в результате реакции NO с O_2 (автоокисление), а также в реакции $NO/O_2^{\bullet-}$, N_2O_3 является мягким окислителем, который предпочитает нитрозатные нуклеофилы, такие как амины и тиолы [43].

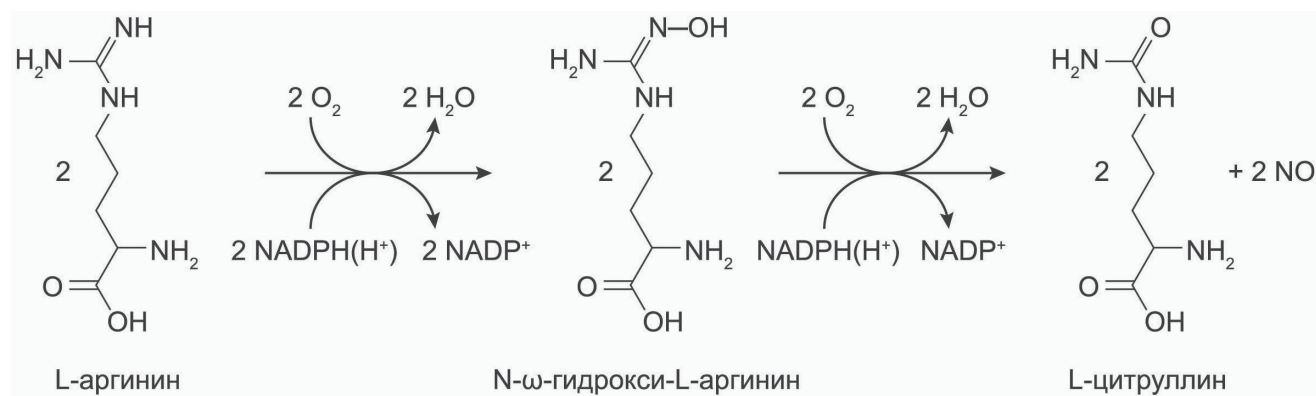


Рис. 1. Двухстадийная реакция, катализируемая NO-синтазой. На первом этапе L-аргинин гидроксилируется с образованием N-гидрокси-L-аргинина с использованием одной молекулы кислорода и двух электронов от $NADPH(H^+)$. На втором этапе N-гидрокси-аргинин с использованием одного электрона от $NADPH(H^+)$ и другой молекулы кислорода превращается в L-цитруллин и NO

Нитрозативный стресс подразумевает, как правило, взаимодействие нитрозония (NO^+) с тиолами, вторичными аминами или гидроксигруппами. Баланс между процессами окисления и нитрозирования во многом зависит от уровня NO.

Экспрессия NOS и уровень NO значительно варьируют в злокачественных новообразованиях и связаны как с проопухолевым, так и с противоопухолевым эффектами [44], что определяется концентрацией NO в среде, временем его воздействия и клеточной адаптацией к NO. Как правило, NO способствует выживанию и пролиферации клеток при низких концентрациях (<200 нМ), тогда как при более высоком уровне (>400 нМ) NO способствует аресту клеточного цикла, апоптозу и старению [45, 46]. Высокие концентрации NO приводят к образованию активных производных NO (N_2O_3 , ONNO^- , NO_2 , NO_2^-), которые вызывают повреждение ДНК, снижая активность ДНК-лигазы и повышая тем самым количество одонитевых разрывов, а также могут инактивировать белки репарации ДНК и служить источником генотоксичных нитрозаминов [47, 48]. Кроме того, цитотоксическое действие NO связано с его способностью подавлять активность белков дыхательной цепи митохондрий путем связывания с FeS-кластерами [49].

Поэтому высокие концентрации NO, продуцируемые, в частности NOS2, потенциальным цитостатическим/цитотоксическим фактором действия иммунной системы, могут оказывать противоопухолевое действие, тогда как хроническая индукция NOS2 способствует активации опухолевого роста [50]. Кроме того, низкие концентрации NO, продуцируемые NOS1 и NOS3, ускоряют прогрессирование опухоли путем модулирования ангиогенеза, апоптоза, клеточного цикла, инвазии и метастазирования [51].

Аберрантная экспрессия гена *NOS1* обнаружена в опухолях головного мозга, легких и глиоме [46]. Установлено, что низкие уровни NO, образуемого NOS1, запускают пролиферацию в первую очередь через механизм, связанный с cGMP, образованный цитозольной гуанилатциклазой [52]. Клеточные линии карциномы яичника (OVCAR3, SKOV3, ES-2) характеризуются высоким уровнем экспрессии *NOS1*, что связано с усилением пролиферации, инвазии и химиорезистентности опухолевых клеток [46].

Недавние исследования показали, что NOS3 может служить маркером отрицательного прогноза при злокачественных новообразованиях,

так как экспрессия *NOS3* также коррелирует с процессами инвазии, метастазирования, ангиогенеза и резистентности [53, 54]. Установлено, что ген *NOS3* высокоэкспрессирован в различных фенотипах клеток колоректального рака, включая низкодифференцированные аденокарциномы, что позволило предложить использовать NOS3 как возможный новый биомаркер при прогностически неблагоприятных колоректальных злокачественных новообразованиях [53].

В результате ряда клинических испытаний установлено, что экспрессия гена *NOS2* связана со значительным числом злокачественных новообразований, включая рак молочной железы, печени, шейки матки, яичников, предстательной железы, носоглотки, легких, желудка, поджелудочной железы, толстой кишки и пищевода, меланому, глиому [55]. Высокий уровень NOS2, как и маркера воспаления COX-2, отмечается во многих типах опухолей, при этом отмечается, что повышение экспрессии *NOS2* является отрицательным прогностическим маркером для пациентов с раком молочной железы, поджелудочной железы, желудка, печени, толстой кишки, глиомы и меланомы, коррелирующих с ростом метастатического потенциала. Кроме того, обнаружено, что трансфекция *NOS2* в опухолевые клетки приводит к более агрессивным опухолям *in vivo*, несмотря на то что *in vitro* они менее пролиферативны [56]. Установлено существование связи между уровнями NO и p53, отражающей тот факт, что p53 может подавлять экспрессию *NOS2*, тогда как высокие уровни NO приводят к повышению стабилизации p53 посредством фосфорилирования остатков Ser/Thr, а также накоплению p53 в клетке, что приводит к остановке клеточного цикла и инициации апоптоза [56, 57].

Роль NO в онкогенезе (при $\text{NO} < 200$ нМ) определяется его участием в ряде механизмов, связанных с инициацией и прогрессированием опухолевого роста: путем активации повреждения и подавления репарации ДНК, активации онкогенов, подавления апоптоза, активации генных мутаций при хронических и злокачественных состояниях (накопление мутантного p53) и появления посттрансляционной модификации белков, изменяющих их функциональное состояние (S-нитрозилирование, нитрование Tyr) [54]. Кроме того, NO используется в сигналинге, связанном со злокачественной трансформацией, включая Wnt-, Ras-, ERK-, Akt-, циклин D1-, mTOR-зависимые пути и участвуя в процессах ангиогенеза, эпителиально-мезенхимального перехода

и метастазирования [58]. Кроме того, в низких концентрациях NO подавляет запуск апоптоза, вызывая гиперэкспрессию антиапоптотических белков Bcl-2 и Bcl-xL и ингибирование каспаз [59]. Напротив, продолжительная гиперпродукция NO действует как проапоптотический модулятор, активируя каспазы путем высвобождения митохондриального цитохрома *c* в цитоплазму, вызывая повышение экспрессии генов *TP53*, *p38 MAPK* и снижение экспрессии генов белков семейства Bcl-2 [60].

S-ГЛУТАТИОНИЛИРОВАНИЕ. РЕГУЛЯЦИЯ РЕДОКС-ГОМЕОСТАЗА В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ

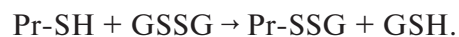
Изменение редокстаза в опухолевых клетках сопровождается редокс-зависимым изменением посттрансляционной модификации белков, в большой степени благодаря модификации наиболее чувствительных к уровню АФК/АФА остатков Cys. Хотя в процентном отношении в белках количество остатков Cys не превышает 3% [9], они являются одними из наиболее чувствительных к окислительной модификации аминокислотных остатков и в большой степени связаны с редокс-зависимой регуляцией функциональной активности белков, поскольку остатки Cys принимают участие в формировании третичной и четвертичной структуры и входят в состав активных центров. В этой связи высокосignификантными редокс-зависимыми посттрансляционными модификациями белков являются S-глутатионилирование и S-нитрозилирование остатков Cys.

Значение pK_a SH-группы остатка Cys определяется структурой его микроокружения и может значительно варьировать (от 3,5 до >12). Обычно при физиологическом значении pH (7,0–7,4) pK_a приблизительно составляет 8,5. Снижение pK_a может быть вызвано стабилизацией тиолат-аниона ($Pr-S^-$) электроноакцепторными группами или соседним положительным зарядом, напротив, pK_a тиолата повышается в присутствии отрицательно заряженных групп или внутри гидрофобных складок белка [10]. Так, в непосредственной близости от остатков основных аминокислот (His, Lys и Arg) pK_a SH-группы снижается (обычно до 5,0–7,0), и при физиологическом pH такие сульфгидридные группы будут диссоциированы. Образующиеся тиолат-анионы являются эффективными нуклеофилами, и их реакционная способность по отношению к электрофильным мишеням значительно увеличивается [61].

S-Глутатионилирование представляет собой обратимую посттрансляционную модификацию SH-групп остатков Cys белков с последующим повышением как молекулярной массы, так и отрицательного заряда (за счет остатка Glu) благодаря связыванию с глутатионом (GSH), что приводит не только к защите остатков Cys от окислительного повреждения, но и к редокс-зависимому изменению конформации и функциональной активности белков [10].

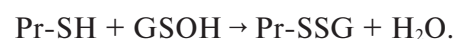
Пул тиолов белка находится в динамическом состоянии равновесия с пулом глутатиона и может служить буфером для регенерации GSH. S-Глутатионилирование белков происходит как спонтанно, так и ферментативно [11].

Неферментативные реакции S-глутатионилирования могут протекать в ходе тиол-дисульфидного обмена при участии тиола белка ($Pr-SH$) и окисленного глутатиона GSSG:



Константа равновесия реакции K_{mix} выражается отношением $[Pr-SSG] \times [GSH] / [Pr-SH] \times [GSSG]$, следовательно, доля глутатионилированного белка ($[Pr-SSG] : [Pr-SH]$) сильно зависит от локального соотношения $[GSH] : [GSSG]$ [62]. Глутатионилирование белка примерно на 50% ($K_{mix} \sim 1$; $[Pr-SSG] : [Pr-SH] = 1$) может произойти при очень сильном падении этого соотношения (с 100 : 1 до 1 : 1). Для образования значительного количества Pr-SSG необходим значительный сдвиг соотношения GSH/GSSG в сторону GSSG. Такой резкий сдвиг маловероятен при нормальных физиологических условиях, за исключением тяжелого окислительного стресса, что означает, что этот механизм не служит основным путем глутатионилирования [63]. Во многих типах опухолевых клеток отмечается рост GSH/GSSG благодаря индукции синтеза GSH и восстановления GSSG в результате повышения уровня образования NADPH(H^+) вследствие активации ПФП [64], что отмечается как адаптивный ответ на окислительный стресс. Кроме того, низкие значения констант скорости второго порядка для реакции различных тиолов с GSSG ($4,9 \times 10^2$ – $1,2 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$) [65] делают тиол-дисульфидный обмен маловероятным событием.

Образование глутатионилированного белка возможно также в результате его взаимодействия с окисленной формой глутатиона в виде сульфеновой кислоты (GSOH):



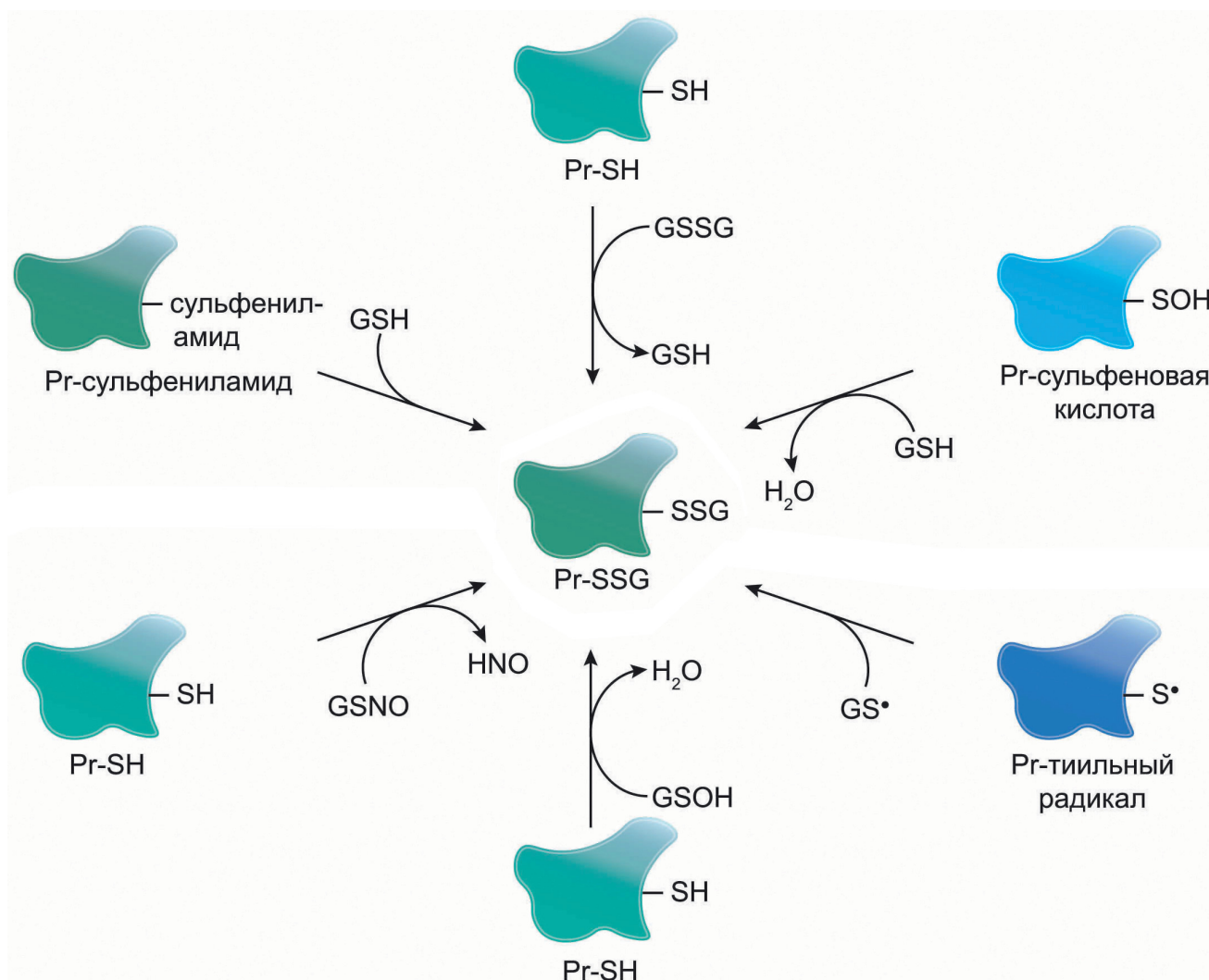
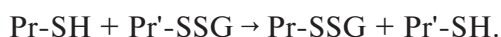


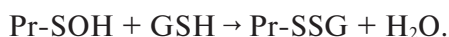
Рис. 2. Механизмы спонтанного S-глутатионилирования

Кроме того, возможен вариант тиол-ди-сульфидного обмена между Pr-SH и белком, который уже S-глутатионилирован (Pr'-SSG):



S-Глутатионилирование может происходить при взаимодействии Pr-SH или GSH с окисленным производным остатка цистеина белка, например, сульфеновой кислотой (-SOH), тиильным радикалом (-S[•]), S-нитрозилем (-SNO), тиосульфатом (-S(O)SR) или сульфениламидом (циклический-S-N-CO-) (рис. 2).

При окислительном действии АФК на Pr-SH (например, H₂O₂) образуется сульфеновая кислота (Pr-SOH), которая затем быстро реагирует с GSH с образованием Pr-SSG:

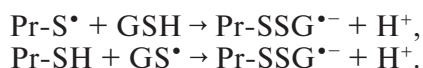


В микромолярных концентрациях H₂O₂ окисление SH-групп белка протекает быстро:

сульфеновая кислота нестабильна и может подвергаться дальнейшему окислению до сульфинового (Pr-SO₂H) и в итоге до сульфоновой кислоты (Pr-SO₃H), образование которой приводит, как правило, к необратимой дезактивации белка. Таким образом, S-глутатионилирование сульфеновой кислоты может предотвратить дальнейшее окисление белка по остатку цистеина [66]. В физиологических условиях внутриклеточный уровень H₂O₂ находится в субмикромолярном диапазоне (10⁻⁹–10⁻⁷ М) [67], поэтому спонтанное S-глутатионилирование *in vivo* по этому механизму будет происходить довольно медленно. Однако в опухолевых клетках развитие окислительного стресса сопровождается повышенной генерацией H₂O₂. Следует также отметить, что образование сульфеновой группы в белках является редким событием благодаря высокой активности GPx1 и пероксиредоксина (Prx), имеющих более высокие константы скорости второго порядка для реакции восстановления H₂O₂

по сравнению с взаимодействием H_2O_2 с белковыми остатками Cys [68]. В то же время локальная инактивация пероксидаз, приводящая к высоким уровням H_2O_2 , может способствовать сульфенилированию тиолов.

Одноэлектронное окисление белкового тиола или GSH, например, гидроксильным радикалом ($\cdot\text{OH}$), приводит к образованию белкового тиильного радикала ($\text{Pr-S}^\bullet$) или тиильного радикала глутатиона ($\text{GS}^\bullet$), которые способны образовывать глутатионилированный радикальный интермедиат ($\text{Pr-SSG}^{\bullet-}$) при взаимодействии с GSH или Pr-SH соответственно:



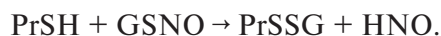
Далее, в результате взаимодействия $\text{Pr-SSG}^{\bullet-}$ с молекулярным кислородом образуется супероксид и Pr-SSG. Тиильные радикалы образуются в условиях окислительного или нитрозативного стресса и являются одними из самых короткоживущих активированных тиолов [69]:



Возможен крайне редкий вариант прямого образования Pr-SSG при взаимодействии одновременно двух радикалов $\text{Pr-S}^\bullet$ и $\text{GS}^\bullet$:



Действие NO может вызывать спонтанное S-глутатионилирование. NO является слабым тиоловым окислителем, однако как S-глутатионилирование, так и S-нитрозилирование (см. ниже) можно стимулировать за счет вторичного образования АФА. Так, действие противоопухолевого агента PABA/NO (O^2 -[2,4-динитро-5-(N-метил-N-4-карбоксифениламино)фенил]1-(N,N-диметиламино)диазен-1-иум-1,2-диолата) на клетки аденокарциномы SKOV3 и промиелоцитарного лейкоза HL60 вызывает дозозависимое повышение внутриклеточного уровня NO с последующим развитием нитрозативного стресса, наряду с высоким уровнем S-глутатионилирования белков, включая β -лактатдегидрогеназу, ингибитор диссоциации RhoGDP β , АТФ-синтазу, фактор элонгации 2, PDI, нуклеофосмин-1, шаперонин, актин, протеинтирозинфосфатазу 1B (protein tyrosine phosphatase 1B), глюкозидазу II [70]. Следует отметить, что при взаимодействии с тиолами нитрозоглутатион (GSNO) также может приводить к S-глутатионилированию [71]:



На примере тирозинфосфатазы 1B показано, что образование Pr-SSG, как промежуточного интермедиата, может происходить при восстановлении сульфенил-амида, циклической структуры, содержащей фрагмент -S-N-CO- и формирующейся в условиях сильного окислительного стресса с участием остатка Cys215 в активном центре фермента [72].

Реакции неферментативного S-глутатионилирования неспецифичны и интенсивно протекают в условиях стресса. Однако скорость и масштабы этого процесса значительно возрастают при участии ферментов, среди которых лидирующее значение принадлежит изоформе глутатион S-трансферазы P1-1 (GSTP1-1), экспрессия гена которой имеет высокое прогностическое значение для широкого ряда злокачественных новообразований [73, 74]. Кроме того, высокая экспрессия *GSTP1* связана с развитием лекарственной устойчивости опухолевых клеток, связанным с редокс-зависимым механизмом, подавлением путей активации апоптоза и цитотоксичности противоопухолевых препаратов (доксорубицина, цисплатина) [75].

Пероксиредоксины (Prx), семейство тиол-специфических пероксидазных ферментов, повышение экспрессии генов которых отмечается в различных типах опухолей [76], являются известными мишенями для GSTP1-опосредованного обратимого глутатионилирования [77]. Каталитический цистеин в ферменте Prx подвержен окислению и при восстановлении субстрата (H_2O_2) утрачивает пероксидазную активность. GSTP1 способствует глутатионилированию ранее окисленного остатка цистеина, тем самым восстанавливая активность Prx. Субстратами для глутатионилирования являются два основных подкласса Prxs — 1-cys Prx (также известный как Prx6) и 2-cys Prx [77]. Каталитически активный остаток Cys47 скрыт в гидрофобном ядре Prx6, субстратами являются как H_2O_2 , так и гидропероксиды фосфолипидов. После восстановления пероксида окисленный Cys47 получает доступ к GSH-нагруженному GSTP1 для реактивации Prx6 [78]. Активация Prx6 происходит при формировании гетеродимера с GSTP1-1, что способствует глутатионилированию Cys47 Prx6, вследствие чего происходят конформационные изменения гетеродимера, обеспечивающие формирование дисульфидной связи между Cys47 GSTP1-1 и Cys47 Prx6, за чем следует восстановление дисульфида при участии GSH и регенерация Cys47 Prx6. Убедительные данные свидетельствуют о том, что разные полиморфные формы GSTP1 могут

по-разному опосредовать активацию *Ptxb* и, таким образом, влиять на его реакцию на уровень АФК. *GSTP1-1A*, наиболее распространенная полиморфная форма *GSTP1*, имеет более высокое сродство к *Ptxb* по сравнению с *GSTP1-1B* или *-1D* [79]. Более того, клетки рака молочной железы, трансфицированные *GSTP1A*, показали значительно более высокую пероксидазную активность, чем клетки, трансфицированные *GSTP1B* [79]. Различия в активности могут быть связаны с изменением относительного расстояния между окисленным Cys47 и активированным GSH, связанным с молекулой *GSTP1* в различных полиморфных формах.

Интересно, что *GSTP1-1* является редокс-зависимым ферментом, ингибирование которого вызывает глутатионилирование по остаткам Cys47 и Cys101, приводя к разрыву его связывания с JNK1 (с-Jun N-terminal kinases 1) [73]. Прямое белок-белковое взаимодействие *GSTP1-1* с JNK1 ингибирует активность киназы, ослабляя индуцированные JNK ответы на стресс и апоптоз. Следовательно, окислительный стресс, вызывая инактивацию *GSTP1-1*, активирует JNK.

Рост экспрессии *GSTP1* в опухолевых клетках может способствовать онкогенезу посредством глутатионилирования и ингибирования такого онкосупрессора, как p53, который играет ключевую роль в репарации ДНК, контроле клеточного цикла, дифференцировке и подавлении роста опухоли [80]. Так, высокий уровень глутатионилированного p53 обнаружен в клетках аденокарциномы предстательной железы и меланомы [81], чему может способствовать также действие окислительного стресса и повреждение ДНК.

S-Глутатионилирование может способствовать активации транскрипционного фактора Nrf2, контролирующего экспрессию генов ферментов систем детоксикации и антиоксидантной защиты [82, 83]. Следует отметить, что при чрезмерном окислительном стрессе накопившийся в ядре избыточный Nrf2 может связываться с регуляторной областью промотора гена *Klf9* и активировать его экспрессию, что приводит к подавлению экспрессии генов антиоксидантных ферментов путем связывания Klf9 с их репрессивными сайтами и вызывает клеточное повреждение в результате роста уровня АФК [37]. В нормальных условиях Nrf2 связан в цитоплазме с Keap-1 (Kelch-like ECH-associated protein 1), который ограничивает активность Nrf2. Ингибирование Nrf2 является нормальной стратегией эффективного лечения злокачественных новообразований.

Однако недавние исследования показали, что не только ингибиторы, но и активаторы Nrf2 способны индуцировать апоптоз опухолевых клеток [84, 85], что создает новое направление для противоопухолевой терапии. Несмотря на существование большого количества активаторов Nrf2, немногие из них могут способствовать апоптозу клеток. Таким образом, поиск препаратов, активирующих Nrf2 и способствующих клеточному апоптозу, стал новой идеей для лечения опухолей. Таким подходом может служить активация S-глутатионилирования. Так, на immortalized клетках карциномы шейки матки HeLa установлено, что использование 2-(7-(диэтиламино)-2-оксо-2H-хромен-3-ил)циклогекса-2,5-диен-1,4-диона, истощающего уровень GSH, приводит к усилению S-глутатионилирования Keap-1 с последующей активацией ядерной транслокации Nrf2, что вызывает усиление транскрипции гена *p53*, снижает внутриклеточный уровень Bcl2 и, напротив, повышает содержание Bax с последующей активацией апоптоза опухолевых клеток [86].

Важную роль в пролиферации, инвазии, онкогенезе и метастазировании опухоли играют изоформы протеинкиназы C (PKC) [87], гиперэкспрессия генов которых связана с развитием опухолевого роста за счет синергической активации нескольких путей клеточного выживания и митоза, включая NF- κ B-, Stat3 (signal transducer and activator of transcription 3)-, PI3K/Akt-, ERK-зависимый сигналинг [88, 89]. Обнаружено, что изоформы PKC (α , β , γ , ϵ , ζ) инактивируются в результате окислительного S-глутатионилирования, что, в частности, показано с использованием диамида и GSH [90].

Мишенями для S-глутатионилирования является чрезвычайно широкий ряд белков, участвующих практически во всех областях жизнедеятельности опухолевых клеток. В частности, глутатионилирование ингибирует активность различных ферментов, участвующих в энергетическом обмене, включая NADH-дегидрогеназу, цитохромоксидазу, АТФ-азу, пируватдегидрогеназу, глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназу (GAPDH) [74]. Подавляя активность пируваткиназы M2 и бифункционального фермента, образующего фруктозо-2,6-бисфосфат, S-глутатионилирование способствует усилению ПФП и повышению образования NADPH(H^+), что способствует росту уровня GSH за счет усиления активности глутатионредуктазы, восстанавливающей GSSG с использованием NADPH(H^+) в качестве кофермента [91, 92]. S-Глутатионилирование

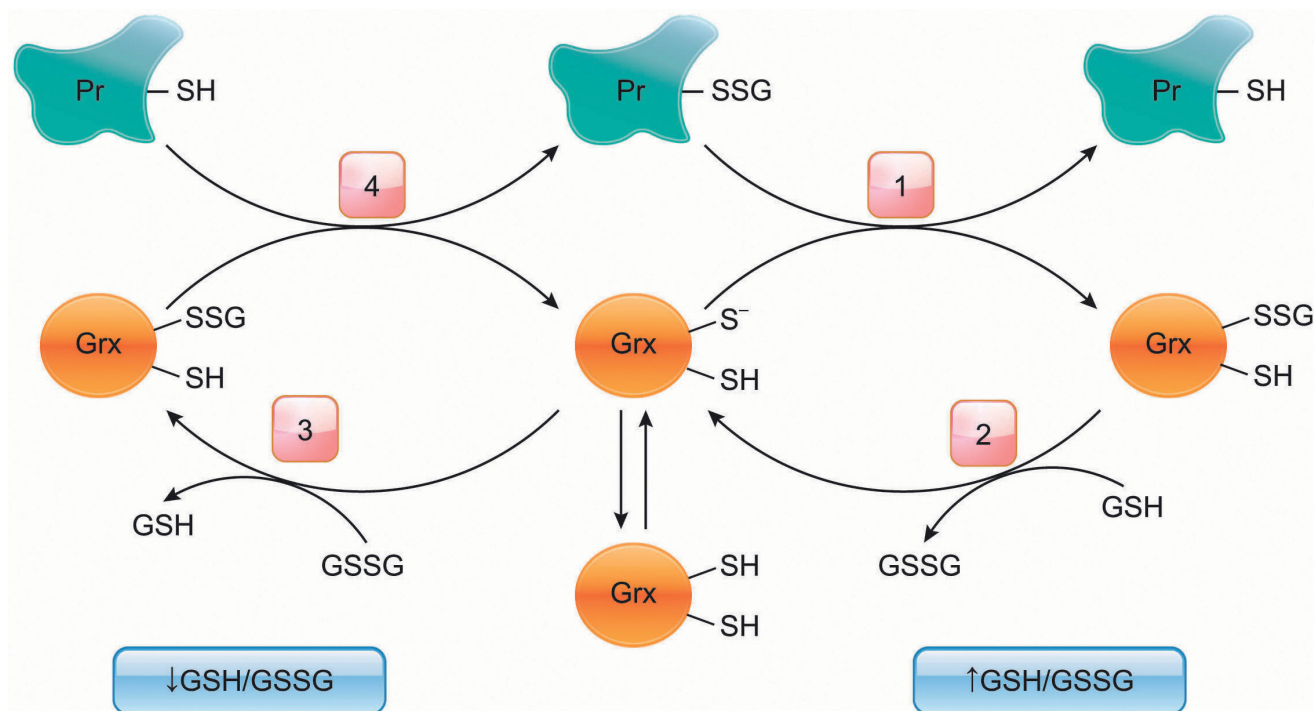


Рис. 3. Каталитический механизм глутаредоксина в зависимости от соотношения GSH/GSSG. При повышенном уровне GSH/GSSG Grx катализирует деглутатионирование белков: (1) глутатионированный белок (Pr-SSG) подвергается атаке тиолат-аниона фермента (Grx-S⁻) с образованием восстановленного белка (Pr-SH) и интермедиата (Grx-SSG), который далее (2) восстанавливается с помощью GSH, образуя активный Grx-SH и GSSG. При снижении соотношения GSH/GSSG Grx катализирует S-глутатионирование: S-глутатионированный Grx (Grx-SSG), образующийся в реакции с GSSG (3), реагирует с белком с образованием S-глутатионированного белка (Pr-SSG) (4)

модулирует активность внутриклеточных сигнальных путей, изменяя активность многих белков, в частности, киназ Akt и MEKK1 (mitogen-activated protein kinase kinase 1), протеинтирозинфосфатазу 1B, Ras-белков. S-Глутатионирование H-Ras по остатку Cys118 модулирует его GTP-азную активность, вызывая активацию нижестоящих p38 и Akt [93]. Важный медиатор апоптоза каспаза-3, как и ее предшественник прокаспаса-3, подвергаются S-глутатионированию. S-Глутатионирование прокаспазы-3 ингибирует ее способность подвергаться протеолитической активации. Глутатионирование каспазы-3 по остатку Cys135 белковой субъединицы p17, присутствующему в активном центре, влияет на доступ субстрата, снижая активность фермента [94].

Процесс S-глутатионирования является обратимой посттрансляционной модификацией, и, как правило, деглутатионирование протекает ферментативно и более тщательно регулируется по сравнению с S-глутатионированием. Одним из наиболее эффективных ферментов, восстанавливающих Pr-SSG, являются изоформы глутаредоксина (Grx1 и Grx2). Следует отметить, что в зависимости от вели-

чины соотношения GSH/GSSG Grx может не только осуществлять деглутатионирование, но и, напротив, способствовать S-глутатионированию (рис. 3) [95]. При снижении GSH/GSSG и повышении концентрации H₂O₂ Grx2 функционирует как глутатионирующий фермент, например, в отношении дыхательного комплекса I, тогда как при высоком уровне GSH/GSSG и низкой концентрации H₂O₂ Grx2 обладает деглутатионирующей активностью. Такая зависимость процессов S-глутатионирования/деглутатионирования, катализируемых Grx, от клеточного редокс-статуса может быть возможной адаптацией, гарантирующей, что события S-глутатионирования не будут обращены вспять, пока сохраняется окислительный стресс [96, 97].

Механизм S-глутатионирования, катализируемый Grx, протекает в несколько стадий. Сначала идет нуклеофильная атака тиолат-анионом Grx-S⁻ дисульфидной связи GSSG, что приводит к образованию глутатионированного интермедиата Grx-SSG, с которого происходит перенос активированного катионного радикала [GS[•]]⁺ на белок-мишень с образованием Pr-SSG, при этом Grx опять способен к катализу. Для данного процесса

отмечается также возможность обратимого образования Grx-S₂ из Grx-SSG [96]. При де-глутатионилировании белок (Pr-SSG) подвергается атаке тиолат-аниона фермента (Grx-S⁻), образуя ковалентный интермедиат (Grx-SSG) с высвобождением восстановленного белка (Pr-SH). На втором этапе, определяющем скорость деглутатионилирования, происходит восстановление Grx-SSG с помощью GSH с образованием GSSG.

Сульфиредоксин (Srx) играет преимущественную роль в деглутатионилировании некоторых белков (Prx1, актин, PTP1B), возможно, из-за его более высокого сродства к таким белкам по сравнению с Grx. В отличие от Grx, Srx, вероятно, не инактивируется окислительным стрессом, как это видно из его способности снижать уровень S-глутатионилирования при росте АФК [98]. Механизм деглутатионилирования, катализируемый Srx, имеет сходство с механизмом, катализируемым Grx, и включает образование глутатионилированного по консервативному остатку Cys99 промежуточного интермедиата Srx-SSG [99]. Деглутатионилирование, катализируемое Srx, по-видимому, имеет широкую субстратную специфичность. На клетках HEK293 с трансфекцией Srx продемонстрировано снижение общего содержания S-глутатионилированных белков, образующихся в условиях нитрозативного стресса после обработки донором оксида азота PABA/NO [98].

На эпителиальных клетках рака молочной железы T47-D показано, что способностью катализировать реакцию деглутатионилирования обладает изоформа глутатионтрансферазы GSTO1-1 [100, 101], которая имеет структурное сходство с Grx, включая Trx-подобную укладку и сайт связывания GSH, где он может образовывать дисульфидную связь с консервативным остатком Cys32 активного центра. Другие изоформы GST, включая GSTA, GSTM, GSTP, GSTT, GSTS и GSTZ, напротив, имеют каталитические остатки Tyr или Ser. GSTO1-1 катализирует деглутатионилирование в два этапа, подобно Grx: сначала Cys32 активного центра GSTO1-1 взаимодействует с Pr-SSG, в результате образуются восстановленный Pr-SH и смешанный дисульфид GSTO1-1-Cys32-SG, который затем деглутатионилируется при участии GSH с образованием GSSG и функционально активной GSTO1-1.

Способность к деглутатионилированию белков обнаружена и у PDI, активация которых наблюдается при различных видах злокачественных новообразований (рак почки, легких, предстательной железы, меланома) и гиперэкспрес-

сия генов которых часто коррелирует с метастазированием и инвазивностью опухоли, химио-резистентностью и более низкой выживаемостью онкологических больных [102, 103]. Однако пока не ясна значимость вклада PDI в этот процесс, поскольку их основной функцией является обмен дисульфидными связями, локализованными в структуре PDI и в белках-мишенях. Располагаясь в ЭПР, PDI катализирует окисление новых формирующихся белков и участвует в изомеризации белков с неверно сформированными дисульфидными связями, добываясь построения их нативной структуры, кроме того, PDI может секретироваться клеткой или ассоциироваться с поверхностью клетки для поддержания белков в восстановленном состоянии.

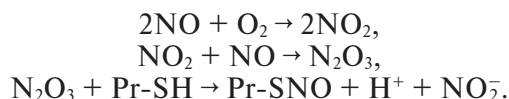
S-НИТРОЗИЛИРОВАНИЕ. РЕГУЛЯЦИЯ РЕДОКС-ГОМЕОСТАЗА В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ

Обратимой посттрансляционной модификацией тиоловых групп белков, наряду с S-глутатионилированием, служит S-нитрозилирование [4].

Как правило, для S-нитрозилирования тиольных групп цистеина необходимо одно-электронное окисление, которое происходит с участием O₂ либо иона переходного металла, например железа или меди [104]. Вариант возможного прямого присоединения NO случается достаточно редко с участием тиольного радикала:



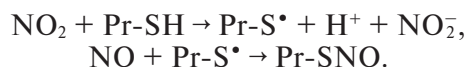
При взаимодействии NO с O₂ образуется набор оксидов с более высокой степенью окисления азота (так называемое аутоокисление), среди которых N₂O₃ рассматривается как главный нитрозилирующий агент, способствующий появлению нитрозотиола белка и нитрита. Скорость этой реакции существенно увеличивается в гидрофобных средах, таких как мембраны, где локализована NOS3 [104]:



Одним из возможных механизмов синтеза GSNO является взаимодействие GSH с N₂O₃:

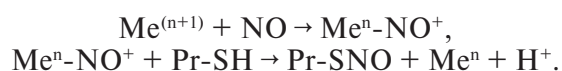


Возможен вариант взаимодействия NO_2 с тиолом с образованием тиильного радикала и дальнейшей его реакции с NO :



Оба варианта ограничены по скорости на этапе образования NO_2 , а также доступностью NO .

Описан вариант S-нитрозилирования, катализируемого ионами переходных металлов (Fe^{3+} или Cu^{2+}), при этом происходит одноэлектронное окисление NO , а образующийся нитрозоний (NO^+) может нитрозировать тиол, располагающийся в непосредственной близости:



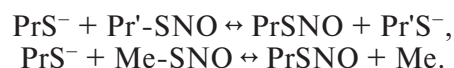
Такой механизм имеет место при аутонитрозилировании гемоглобина и при образовании GSNO с участием церулоплазмينا и цитохрома *c* [104].

Следует отметить, что S-нитрозилирование может осуществляться только по определенным остаткам Cys белков. Целевой остаток Cys должен находиться: а) в непосредственной близости от источника образования NO , б) в белковом мотиве I/L-X-C-X₂-D/E, который специфически распознается NOS, в) в высокогидрофобной области, образованной третичной белковой структурой или мембранами, г) в подходящем микроокружении с необходимыми свойствами для образования тиолят-аниона [105].

Согласно этим условиям первыми мишенями S-нитрозилирования являются изоформы NOS, генерирующие NO [106]. Так, S-нитрозилирование NOS3 ингибирует ее димеризацию и, таким образом, активацию фермента. Последнее предполагает, что S-нитрозилирование конститутивной NOS может служить механизмом самовыключения [106]. Мотив I/L-X-C-X₂-D/E должен находиться внутри α -спирали, образуя большую площадь поверхности, чтобы повысить доступность NO [107]. Кроме того, в рамках мотива S-нитрозилирования целевой тиол остатка Cys должен электростатически взаимодействовать с соседними заряженными остатками ($<6 \text{ \AA}$), что увеличивает его нуклеофильность, способствуя образованию тиолят-аниона. S-Нитрозилирование белков также предпочтительно идет по Cys-остаткам в гидрофобных областях, в которые легко могут проникать NO и молекулярный кислород и где скорость их реакции возрастает

в 30–300 раз [108]. В окружении остатков-мишеней Cys (в пределах $8 \text{ \AA}$) должно быть небольшое количество объемных, стерически затрудненных остатков аминокислот (Phe, Tyr, Arg, Leu), наличие которых препятствует взаимодействию с NO [109].

Хотя S-нитрозилирование происходит только с определенными остатками Cys, такая селективность может частично устраняться с помощью *транс*-нитрозилирования. При *транс*-нитрозилировании низкомолекулярный нитрозотиол (например, GSNO) или белок, нитрозилированный по остатку Cys или содержащий нитрозилированный ион металла (например, в геме), взаимодействует с белком, подвергаясь S-нитрозилированию, и передает нитрозо-группу (ON-) на остаток Cys этого белка:



Такой перенос способствует последовательной удаленной передаче NO от места его синтеза, включая перенос NO между разными субклеточными структурами [110]. *Транс*-нитрозилирование происходит при условии, что два белка непосредственно взаимодействуют и обладают соответствующими окислительно-восстановительными потенциалами, обеспечивающими перенос электрона с последующим переносом NO [110]. Предполагается, что физическая ассоциация двух белков вызывает конформационное изменение, позволяя реципиентному тиолу образовывать тиолят-анион, который затем атакует нитрозильную группу донора [110].

GSNO является наиболее распространенным S-нитрозотиолом и основным эндогенным донором NO , легко образующимся в митохондриях при переносе нитрозильной группы с железа гема цитохрома *c* на GSH и *транс*-нитрозилирующим широкий спектр белков, включая хорошо известные в клеточном сигналинге NF- κ B, STAT3, AKT, EGFR [111, 112]. Опосредованное GSNO *транс*-нитрозилирование субъединиц p65 и p50 NF- κ B, а также киназы I κ B ингибирует активацию NF- κ B, которая тесно связана с развитием злокачественных новообразований [113]. STAT3, способствующий выживанию и пролиферации клеток, также подвергается *транс*-нитрозилированию с помощью GSNO, что приводит к подавлению фосфорилирования STAT3, необходимого для его активации [114]. GSNO может индуцировать апоптоз в клетках рака легкого посредством нитрозилирования Prx2

по сайтам Cys51 и Cys172, вызывающего нарушение образования димера и подавление его антиоксидантной активности, что приводит к накоплению эндогенной H_2O_2 с последующей активацией AMPK. Активированная AMPK фосфорилирует SIRT1 и тем самым ингибирует его деацетилирующую активность по отношению к p53 в клетках аденокарциномы легкого A549 и FOXO1 в клетках немелкоклеточного рака легких NCI-H1299 [115]. В доклинических исследованиях отмечается противоопухолевое действие GSNO, связанное с подавлением опухолевого роста и повышением эффективности лучевой терапии [112]. Следует отметить, что сравнение противоопухолевой активности GSNO и би- и моноядерных динитрозильных комплексов железа с различными тиолсодержащими лигандами на модели трансплантируемых солидных опухолей мышей позволило установить, что наибольшую активность (ингибирование роста опухолевых клеток на 90%) оказывают динитрозильные комплексы железа с GSH, что связано с их способностью выступать в качестве доноров нитрозония [116].

Значительную роль в *транс*-нитрозилировании играет фермент GAPDH, катализирующий превращение глицеральдегид-3-фосфата в D-глицерат-1,3-бисфосфат. Как *транс*-нитрозилаза, GAPDH участвует в регуляции транскрипции и механизма апоптоза [117,118]. GAPDH перемещается из цитозоля в ядро при S-нитрозилировании по остатку Cys150 в активном центре с помощью белка S100A8/A9, S-нитрозилированного, в свою очередь, в результате повышенной активности NOS2 в ответ на стресс [107, 118]. S-Нитрозилирование GAPDH делает возможным ее взаимодействие с убиквитинлигазой E3 Siah1, образующийся комплекс GAPDH–Siah1 перемещается в ядро, где Siah1 опосредует убиквитинирование и деградацию ядерных белков, что приводит к активации апоптоза. GAPDH также может *транс*-нитрозилировать белки, участвующие в транскрипции и репарации ДНК, включая деацетилазы – сиртуин-1 (sirtuin-1, SIRT1) и гистондеацетилазу 2 (histone deacetylase 2, HDAC2), активность которых ингибируется S-нитрозилированием, а также белок репарации ДНК – ДНК-зависимую протеинкиназу, которая, напротив, активируется за счет S-нитрозилирования [118]. Кроме того, GAPDH участвует в активации p53-опосредованного апоптоза в результате образования комплекса с p53 [117]. В ответ на стресс GAPDH также перемещается в митохондрии для *транс*-нитрозилирования митохондриальных белков,

таких как Hsp60, ацетил-KoA-ацетилтрансфераза (acetyl-CoA acetyltransferase, ACAT1) и потенциал-зависимый анионный канал 1 (voltage dependent anion channel 1, VDAC1) [119]. Повышение GAPDH-опосредованного *транс*-нитрозилирования митохондриальных белков регулирует проницаемость митохондриальной мембраны, функциональную активность митохондрий и гибель клеток [120]. В опухолевых клетках нарушается GAPDH-опосредованное *транс*-нитрозилирование ядерных белков, что приводит к нарушению стресс-зависимого апоптоза [118], одной из причин которого является подавление Siah1, которое облегчает ядерную транслокацию GAPDH [114]. Экспрессия Siah1 напрямую регулируется опухолевым супрессором p53, подавленным при многих типах рака [121].

Функцию *транс*-нитрозилаз могут выполнять кальций- и цинк-связывающие белки S100A8 и S100A9, участвующие в регуляции воспалительных процессов и иммунного ответа и образующие гетеродимер кальпротектин (S100A8/A9) [122], который при S-нитрозилировании превращается в противовоспалительные агенты, ингибирующие активацию тучных клеток и взаимодействие лейкоцитов с эндотелием [123]. Кроме того, при индукции NOS2 под действием воспалительных стимулов S-нитрозилированный S100A8/A9 *транс*-нитрозилирует контактирующие с ним белки, способствуя переносу нитрозильной группы от NOS2 к отдаленным белкам-мишеням [107]. В настоящее время в клетках и в микроциркуляторном русле идентифицировано более 100 белков, *транс*-нитрозилируемых S100A8/A9 [107], среди которых GAPDH (см. выше), гемоглобин, белки цитоскелета (эзрин, моэзин), связывающие кортикальный актин с плазматической мембраной, и виментин, главный промежуточный филамент в мезенхимальных клетках и метастатических опухолевых клетках [107]. Предполагается, что S-нитрозилирование вызывает конформационные изменения, влияющие на стабильность белка и межбелковые взаимодействия [124].

Уровень S-нитрозилированных белков в клетке определяется клеточным редокс-статусом и активностью денитрозилирования. Высокий статус антиоксидантной системы, повышающий восстановительный потенциал клеток, может предотвратить S-нитрозилирование, тогда как его снижение способствует S-нитрозилированию [125]. Кроме того, уровень S-нитрозилирования в клетках контролируется балансом между S-нитрозилированием

и денитрозилированием. В отличие от S-нитрозилирования, которое обычно является неферментативной реакцией (за исключением прокариот), процесс денитрозилирования может быть как неферментативным, так и ферментативным [12]. Расщепление S-нитрозильной группы может происходить самопроизвольно в присутствии восстановителей (аскорбат, GSH), ионов металлов (Cu^{2+}), в результате действия УФ-излучения, АФК или нуклеофилов [12] и/или катализироваться денитрозилазами, которые ферментативно удаляют нитрозильную группу из S-нитрозотиолов.

Одной из основных денитрозилаз служит S-нитрозоглутатионредуктаза (GSNOR), разлагающая GSNO в ходе необратимой NADH-зависимой реакции в присутствии GSH до продуктов, характер которых определяется соотношением GSH/GSSG. При высоких уровнях GSH образуются GSSG и гидроксиламин, тогда как при низких уровнях GSH/GSSG — глутатионсульфиновая кислота и аммиак. Таким образом, клеточный редокс-потенциал, зависящий от уровней NADH(H^+) и GSH, является важным фактором в контроле образования продуктов S-денитрозилирования [126]. Внутриклеточные уровни S-нитрозилированных белков контролируются GSNOR, которая выводит из игры GSNO, как активнейшего участника реакций *транс*-нитрозилирования, управляя тем самым пулом Pr-SNO в клетке. Сверхэкспрессия или дефекты гена *GSNOR* приводят к нарушению этого баланса и, как следствие, к нарушению NO-зависимого сигналинга, тем самым способствуя возникновению ряда заболеваний, включая злокачественные новообразования.

Установлено, что гипоекспрессия гена *GSNOR* связана с возникновением и прогрессированием гепатоцеллюлярной карциномы и рака молочной железы [127, 128]. Так, экспрессия *GSNOR* снижена примерно в 50% случаев гепатоцеллюлярной карциномы, что связывают с хромосомной делецией *GSNOR* [127]. Гепатоканцерогенез *de novo* после резекции опухоли и плохой прогноз у пациентов с гепатоцеллюлярной карциномой связаны как с дефицитом экспрессии *GSNOR*, так и со сверхэкспрессией гена *NOS2* [129]. Исследования на линии мышей с делецией гена *GSNOR* позволили установить, что дефицит *GSNOR* после внутрибрюшинной инъекции диэтилнитрозамина или липополисахарида приводит к S-нитрозилированию, убиквитинированию и протеасомной деградации ангиотензиногена, активность которого существенна при защите от гепатоцеллюлярной карциномы, индуциро-

ванной диэтилнитрозамином [127]. Для некоторых случаев рака молочной железы также характерно снижение экспрессии *GSNOR*. Так, для опухолей молочной железы с высоким уровнем экспрессии гена *HER2* (human epidermal growth factor receptor 2, HER2), что часто наблюдается для агрессивных опухолей с неблагоприятным прогнозом, при фиксации низкого уровня экспрессии *GSNOR* отмечено повышение пула S-нитрозилированных белков, связанных с развитием апоптоза. При этом увеличение экспрессии *GSNOR* в таких опухолях коррелирует с более высоким процентом выживаемости пациентов [128].

На клетках гепатоцеллюлярной карциномы HepG2, карциномы почки 769P, эмбриональной рабдомиосаркомы RD, аденокарциномы молочной железы MCF7 показано, что дефицит *GSNOR* приводит к усилению S-нитрозилирования киназы FAK1 (focal adhesion kinase 1, FAK1) по Cys658, что усиливает аутофосфорилирование FAK1 и поддерживает онкогенность, обеспечивая опухолевым клеткам способность к подвижности и росту [130]. FAK1, известная также как протеинкиназа тирозинкиназы 2 (PTK2), играет важную роль в метастатической трансформации опухолевых клеток. Полученные данные позволяют рассматривать *GSNOR* в качестве онкосупрессора.

Значительный вклад в процессы денитрозилирования вносит тиоредоксин (thioredoxin, Trx). Интерес к Trx объясняется еще тем, что это универсальный фермент, поскольку, помимо дисульфидредуктазной активности, что определяет его как одного из ключевых игроков в клеточном редокс-гомеостазе, он обладает денитрозилазной и *транс*-нитрозилазной активностью [131]. Когда фермент функционирует как дисульфидредуктаза и денитрозилаза, задействованы остатки Cys32 и Cys35 в активном центре, между которыми в процессе катализа образуется дисульфидная связь, восстанавливаемая TrxR в присутствии NADPH(H^+) (рис. 4) [131, 132]. При этом процесс денитрозилирования многостадийный и может протекать по-разному, но в итоге будет происходить высвобождение нитроксила HNO или NO.

В качестве *транс*-нитрозилазы Trx1 функционирует, когда его Cys32 и Cys35 активного центра связаны дисульфидной связью, что может происходить при высоких уровнях АФК и/или низкой активности TrxR. В окисленной форме Trx1 может быть S-нитрозилирован по дополнительному Cys73 вне активного центра и выступать уже в роли *транс*-нитрозилазы в отношении остатков Cys в молекулах-мишенях. Интересно, что стабильность Trx-SNO,

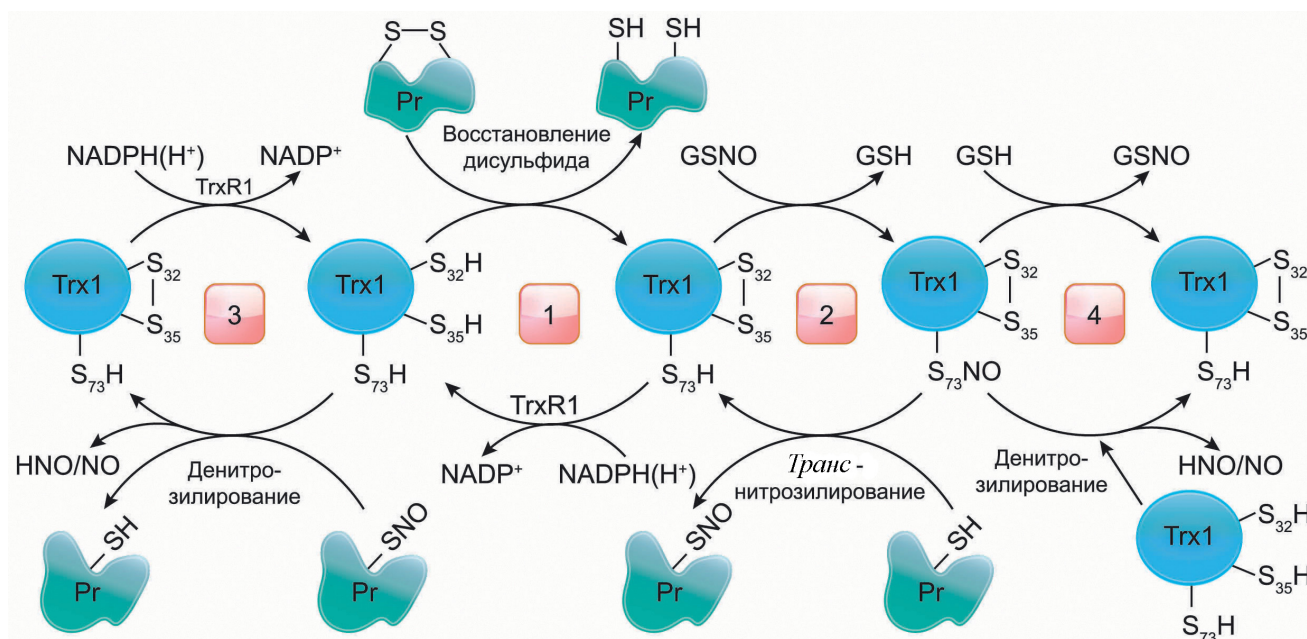


Рис. 4. Механизм *транс*-нитрозилирования и денитрозилирования при участии системы Trx1/TrxR1. 1 – Trx1-(SH)₂, восстанавливая дисульфидные связи в белках-мишенях, окисляется с образованием Trx1-S₂, который восстанавливается с помощью TrxR и NADPH(H⁺). 2 – При повышенном уровне АФК Trx1-S₂ нитрозилируется по Cys73 вне активного центра до SNO-Trx1-S₂, который *транс*-нитрозилирует белки-мишени. 3 – Trx1-(SH)₂ денитрозилирует белки-мишени с образованием HNO или NO. 4 – Денитрозилирование SNO-Trx1-S₂ может происходить в присутствии Trx1-(SH)₂ или GSH

в свою очередь, регулируется восстановителями. Например, восстановленный Trx1-(SH)₂ и GSH будут способствовать денитрозилированию Trx-SNO в клетках, что влияет на баланс между процессами нитрозилирования и денитрозилирования с участием Trx [133, 134].

Гиперэкспрессия гена *TXN1(C32S/C35S)* (мутантного Trx1 с заменой Cys32 и Cys35 серином для имитации Trx1, неактивного в качестве дисульфидредуктазы), как показано на клетках HeLa, способствует нитрозилированию специфических белков-мишеней. С помощью протеомного анализа было идентифицировано 47 новых кандидатов в белки-мишени для *транс*-нитрозилирования Trx1 в этих клетках [133]. Наиболее хорошо охарактеризованной мишенью оказалась эффекторная каспаза-3. Эта модификация приводит к инактивации или активации каспазы-3 в зависимости от редокс-состояния Trx1 [133, 135]. Trx1-(SH)₂ катализирует денитрозилирование нитрозилированной по Cys163 каспазы-3, в то время как Trx1-SNO препятствует апоптозу посредством *транс*-нитрозилирования того же цистеина каспазы-3, тем самым вызывая онкогенную трансформацию [134, 136–138].

In vitro и *in vivo* установлено, что инициаторные каспазы-8 и -9 сигнального каскада, ведущего к апоптозу, также имеют каталитические остатки Cys, которые являются мишенями для S-нитрозилирования [139]. Хотя

пока остается неясным, может ли Trx1 катализировать *транс*-нитрозилирование этих двух инициаторных каспаз. Тем не менее экспериментальные данные свидетельствуют об участии редокс-зависимой системы Trx1/TrxR1 в денитрозилировании SNO-каспазы-9 и восстановительной реактивации каспазы-8 [140, 141]. Несомненно, что регуляция активности каспаз при участии Trx1 играет важную роль в апоптотических сигнальных путях.

Помимо каспаз, в NO-зависимой регуляции механизма апоптоза в опухолевых клетках могут участвовать и другие мишени. Одним из важнейших звеньев, вовлеченных в онкогенез, является изменение в клеточных сигнальных путях, в первую очередь тех, которые отвечают за активацию апоптоза. Цитокины из суперсемейства TNF, такие как FasL, TRAIL и TNFα, могут секретироваться различными клетками в микроокружении опухоли и вызывать либо проопухолевые, либо противоопухолевые эффекты, поскольку реализация запускаемой ими программы зависит от множества факторов, в том числе от различных посттрансляционных модификаций участников передачи сигнала, что в полной мере касается и процессов S-нитрозилирования и денитрозилирования [142, 143]. В частности, рецептор DR4, лигандом которого выступает TRAIL, рассматривается как опухолевый белок-супрессор, функциональная активность которого

связана с запуском внешнего пути активации апоптоза. Донор NO нитрозилкобаламин (аналог витамина B₁₂) обладает высокой антипролиферативной активностью в клетках меланомы, карциномы почки и яичника, вызывая S-нитрозилирование DR4 по остатку Cys336 в цитоплазматическом домене, что способствует его активации. Тогда как точечная мутация C336A в DR4 приводит к потере способности нитрозилкобаламина активировать апоптоз в клетках-мишенях [144].

Рецептор Fas, как установлено на клетках колоректального рака при использовании в качестве донора NO нитроглицерина, может S-нитрозилироваться по двум остаткам Cys199 и Cys304 [145]. Однако только S-нитрозилирование по Cys304 приводит к активации проапоптотической активности, так как такая модификация приводила к включению Fas в липидные рафты, повышению чувствительности клеток к действию FasL и запуску апоптоза [145]. Кроме того, S-нитрозилирование транскрипционного фактора YY1 (Ying Yang 1, YY1), для которого показано репрессирующее действие в отношении рецептора Fas, приводит к инактивации YY1, что повышает экспрессию гена *FAS* и сенсibilизацию опухолевых клеток в отношении агонистов Fas [146].

Изменения в передаче сигнала за счет процессов S-нитрозилирования происходят не только за счет изменения функционирования и активности рецепторов, но и также транскрипционных факторов и киназ, вовлеченных в сигнальные пути, влияющие на жизнеспособность клетки. В частности, S-нитрозилирование/денитрозилирование позволяет регулировать активность STAT3 и NF-κB, которые являются одними из ключевых транскрипционных факторов, участвующих в развитии опухолевой прогрессии, химиорезистентности и метастазировании [147, 148]. Так, STAT3 регулирует экспрессию генов белков, отвечающих за выживание клеток (Bcl-xL, cIAP, сурвивин и Mcl-1), генов белков клеточного цикла (например, c-Мус, CDK2, циклин E, CDK1 и циклин B) и белков, отвечающих за опухолевый ангиогенез (например, VEGF). NF-κB принимает участие в регуляции экспрессии генов белков клеточной выживаемости (cIAP, Bcl-2, Bcl-xL и XIAP), клеточного цикла (c-Мус и циклин D) и мультилекарственной устойчивости (например, MDR1) [114]. На линиях клеток сквамозно-клеточной карциномы головы и шеи HNSCC показано, что активация STAT3 за счет фосфорилирования обратимо подавляется в результате его S-нитрозилирования по остатку Cys259 при действии GSNO [114].

Кроме того, GSNO способствует снижению базальной и цитокин-стимулированной активации NF-κB. Снижение активности STAT3 и NF-κB коррелировало с остановкой клеточного цикла в S- и G2-фазах, снижением пролиферации и активацией апоптоза. При этом наблюдалось снижение экспрессии генов регуляторов клеточного цикла, таких как c-Мус, и антиапоптотических белков Bcl-xL и cIAP (cellular inhibitor of apoptosis protein 1). В модельных экспериментах *in vivo* на мышах с ксенографтами HNSCC системное введение GSNO вызывало снижение опухолевого роста, дополнительное подавление которого наблюдалось при его комбинации с цисплатином и использованием лучевой терапии. Предполагается, что использование GSNO для блокирования NF-κB и STAT3, контролируемых выживание и пролиферацию клеток, дает потенциальную возможность для усиления терапевтического эффекта традиционных методов лечения [114].

S-Нитрозилирование модулирует активность киназ, вовлеченных в клеточный сигналинг. Так, активация ERK1/2-зависимых каскадов, отвечающих за пролиферацию и выживание опухолевых клеток, происходит через фосфорилирование по остаткам Thr202 и Tyr204 киназ ERK1 и ERK2 (extracellular signal-regulated kinases 1 and 2), обладающих 85%-ной гомологией. На клетках глиомы U251 показано [149], что использование GSNO в качестве донора NO вызывает S-нитрозилирование ERK1 по Cys183, находящемуся вблизи остатков Thr202 и Tyr204, приводит к снижению фосфорилирования ERK1/2 и клеточного роста. Замена остатка Cys183 на Ala предотвращает S-нитрозилирование ERK1, восстанавливает фосфорилирование ERK1/2 и подавляет GSNO-индуцированный апоптоз. Повышение фосфорилирования ERK1/2, наряду со снижением S-нитрозилирования ERK1/2, также обнаружено в тканях глиомы человека. С учетом связи между процессами S-нитрозилирования и фосфорилирования ERK1/2 *in vitro* и *in vivo*, предполагается редокс-зависимое участие этих процессов в развитии лекарственной устойчивости глиом [149].

Таким образом, действие АФК/АФА на опухолевые клетки носит двойственный характер. С одной стороны, АФК/АФА могут способствовать инициации злокачественной трансформации за счет активации определенных путей клеточного сигналинга, направленных на усиление пролиферации, выживания и устойчивости к стрессу. Напротив, высокие уровни АФК/АФА могут смягчить прогрессию

опухолеобразования в результате развития окислительного/нитрозативного стресса, вызывающего гибель клеток и ограничение опухолевого роста на определенных фазах развития злокачественных новообразований. Низкие концентрации АФК/АФА, поддерживаемые активностью эндогенной антиоксидантной системы, позволяют осуществлять окислительные/нитрозативные модификации ключевых редокс-зависимых остатков в регуляторных белках. Обратимость таких модификаций, как S-глутатионилирование/S-нитрозилирование, которые происходят посредством электрофильной атаки АФК/АФА на нуклеофильные остатки Cys, обеспечивает редокс-переключения активности сигнальных белков и возможность управления процессами пролиферации и программированной гибели опухолевых клеток. Дальнейшее развитие представлений о системах редокс-зависимого управления кле-

точного гомеостаза, в частности через реакции S-глутатионилирования/S-нитрозилирования, позволят улучшить схемы противоопухолевой терапии с учетом регуляции ключевых ферментов, контролирующих эти процессы и их баланс.

Вклад авторов. Е.В. Калинина — концепция, написание всех разделов, руководство работой; М.Д. Новичкова — написание третьего и четвертого разделов, редактирование текста статьи.

Финансирование. Публикация выполнена при поддержке Программы стратегического академического лидерства РУДН.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sies, H., Belousov, V. V., Chandel, N. S., Davies, M. J., Jones, D. P., Mann, G. E., Murphy, M. P., Yamamoto, M., and Winterbourn, C. (2022) Defining roles of specific reactive oxygen species (ROS) in cell biology and physiology, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **23**, 499-515, doi: 10.1038/s41580-022-00456-z.
2. Ghoneum, A., Abdulfattah, A. Y., Warren, B. O., Shu, J., and Said, N. (2020) Redox homeostasis and metabolism in cancer: a complex mechanism and potential targeted therapeutics, *Int. J. Mol. Sci.*, **21**, 3100, doi: 10.3390/ijms21093100.
3. Hayes, J. D., Dinkova-Kostova, A. T., and Tew, K. D. (2020) Oxidative stress in cancer, *Cancer Cell*, **38**, 167-197, doi: 10.1016/j.ccell.2020.06.001.
4. Mishra, D., Patel, V., and Banerjee, D. (2020) Nitric oxide and S-nitrosylation in cancers: emphasis on breast cancer, *Breast Cancer (Auckl)*, **14**, 1178223419882688, doi: 10.1177/1178223419882688.
5. Gorrini, C., Harris, I. S., and Mak, T. W. (2013) Modulation of oxidative stress as an anticancer strategy, *Nat. Rev. Drug Discov.*, **12**, 931-947, doi: 10.1038/nrd4002.
6. Moloney, J. N., and Cotter, T. G. (2018) ROS signalling in the biology of cancer, *Semin. Cell Dev. Biol.*, **80**, 50-64, doi: 10.1016/j.semcdb.2017.05.023.
7. Brieger, K., Schiavone, S., Miller, F. J., and Krause, K.-H. (2012) Reactive oxygen species: from health to disease, *Swiss Med. Wkly.*, **142**, w13659, doi: 10.4414/smww.2012.13659.
8. Pan, S., and Chen, R. (2022) Pathological implication of protein post-translational modifications in cancer, *Mol. Aspects Med.*, **86**, 101097, doi: 10.1016/j.mam.2022.101097.
9. Kukulage, D. S. K., Matarage Don, N. N. J., and Ahn, Y. H. (2022) Emerging chemistry and biology in protein glutathionylation, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **71**, 102221, doi: 10.1016/j.cbpa.2022.102221.
10. Zhang, J., Ye, Z. W., Singh, S., Townsend, D. M., and Tew, K. D. (2018) An evolving understanding of the S-glutathionylation cycle in pathways of redox regulation, *Free Radic. Biol. Med.*, **120**, 204-216, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.03.038.
11. Mieyal, J. J., Gallogly, M. M., Qanungo, S., Sabens, E. A., and Shelton, M. D. (2008) Molecular mechanisms and clinical implications of reversible protein S-glutathionylation, *Antioxid. Redox Signal.*, **10**, 1941-1988, doi: 10.1089/ars.2008.2089.
12. Stomberski, C. T., Hess, D. T., and Stamler, J. S. (2019) Protein S-nitrosylation: determinants of specificity and enzymatic regulation of s-nitrosothiol-based signaling, *Antioxid. Redox Signal.*, **30**, 1331-1351, doi: 10.1089/ars.2017.7403.
13. Klaunig, J. E. (2018) Oxidative stress and cancer, *Curr. Pharm. Des.*, **24**, 4771-4778, doi: 10.2174/1381612825666190215121712.
14. Raimondi, V., Ciccarese, F., and Ciminale, V. (2020) Oncogenic pathways and the electron transport chain: a dangerROS liaison, *Br. J. Cancer*, **122**, 168-181, doi: 10.1038/s41416-019-0651-y.
15. Tan, A. S., Baty, J. W., and Berridge, M. V. (2014) The role of mitochondrial electron transport in tumorigenesis and metastasis, *Biochim. Biophys. Acta*, **1840**, 1454-1463, doi: 10.1016/j.bbagen.2013.10.016.
16. Ishikawa, K., Takenaga, K., Akimoto, M., Koshikawa, N., Yamaguchi, A., Imanishi, H.,

- Nakada, K., Honma, Y., and Hayashi, J. (2008) ROS-generating mitochondrial DNA mutations can regulate tumor cell metastasis, *Science*, **320**, 661-664, doi: 10.1126/science.1156906.
17. Hoekstra, A. S., and Bayley, J. P. (2013) The role of complex II in disease, *Biochim. Biophys. Acta*, **1827**, 543-551, doi: 10.1016/j.bbabbio.2012.11.005.
18. Cecchini, G. (2013) Respiratory complex II: role in cellular physiology and disease, *Biochim. Biophys. Acta*, **1827**, 541-542, doi: 10.1016/j.bbabbio.2013.02.010.
19. Liou, G. Y., Doppler, H., DelGiorno, K. E., Zhang, L., Leitges, M., Crawford, H. C., Murphy, M. P., and Storz, P. (2016) Mutant KRas-Induced mitochondrial oxidative stress in acinar cells upregulates EGFR signaling to drive formation of pancreatic precancerous lesions, *Cell Rep.*, **14**, 2325-2336, doi: 10.1016/j.celrep.2016.02.029.
20. Chong, S. J. F., Lai, J. X. H., Eu, J. Q., Bellot, G. L., and Pervaiz, S. (2018) Reactive oxygen species and oncoprotein signaling-A dangerous liaison, *Antioxid. Redox Signal.*, **29**, 1553-1588, doi: 10.1089/ars.2017.7441.
21. Vafa, O., Wade, M., Kern, S., Beeche, M., Pandita, T. K., Hampton, G. M., and Wahl, G. M. (2002) c-Myc can induce DNA damage, increase reactive oxygen species, and mitigate p53 function: a mechanism for oncogene-induced genetic instability, *Mol. Cell*, **9**, 1031-1044, doi: 10.1016/s1097-2765(02)00520-8.
22. Li, F., Wang, Y., Zeller, K. I., Potter, J. J., Wonsey, D. R., O'Donnell, K. A., Kim, J. W., Yustein, J. T., Lee, L. A., and Dang, C. V. (2005) Myc stimulates nuclearly encoded mitochondrial genes and mitochondrial biogenesis, *Mol. Cell. Biol.*, **25**, 6225-6234, doi: 10.1128/MCB.25.14.6225-6234.2005.
23. Vermot, A., Petit-Härtlein, I., Smith, S. M. E., and Fieschi, F. (2021) NADPH oxidases (NOX): an overview from discovery, molecular mechanisms to physiology and pathology, *Antioxidants (Basel)*, **10**, 890, doi: 10.3390/antiox10060890.
24. Konaté, M. M., Antony, S., and Doroshov, J. H. (2020) Inhibiting the activity of NADPH oxidase in cancer, *Antioxid. Redox Signal.*, **33**, 435-454, doi: 10.1089/ars.2020.8046.
25. Kumar, B., Koul, S., Khandrika, L., Meacham, R. B., and Koul, H. K. (2008) Oxidative stress is inherent in prostate cancer cells and is required for aggressive phenotype, *Cancer Res.*, **68**, 1777-1785, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-07-5259.
26. Mukawera, E., Chartier, S., Williams, V., Pagano, P. J., Lapointe, R., and Grandvaux, N. (2015) Redox-modulating agents target NOX2-dependent IKKepsilon oncogenic kinase expression and proliferation in human breast cancer cell lines, *Redox Biol.*, **6**, 9-18, doi: 10.1016/j.redox.2015.06.010.
27. Dho, S. H., Kim, J. Y., Kwon, E. S., Lim, J. C., Park, S. S., and Kwon, K. S. (2015) NOX5-L can stimulate proliferation and apoptosis depending on its levels and cellular context, determining cancer cell susceptibility to cisplatin, *Oncotarget*, **6**, 39235-39246, doi: 10.18632/oncotarget.5743.
28. Speed, N., and Blair, I. A. (2011) Cyclooxygenase- and lipoxygenase-mediated DNA damage, *Cancer Metastasis Rev.*, **30**, 437-447, doi: 10.1007/s10555-011-9298-8.
29. Krishnamoorthy, S., Jin, R., Cai, Y., Maddipati, K. R., Nie, D., Pagès, G., Tucker, S. C., and Honn, K. V. (2010) 12-Lipoxygenase and the regulation of hypoxia-inducible factor in prostate cancer cells, *Exp. Cell Res.*, **316**, 1706-1715, doi: 10.1016/j.yexcr.2010.03.005.
30. Sarveswaran, S., Chakraborty, D., Chitale, D., Sears, R., and Ghosh, J. (2015) Inhibition of 5-lipoxygenase selectively triggers disruption of c-Myc signaling in prostate cancer cells, *J. Biol. Chem.*, **290**, 4994-5006, doi: 10.1074/jbc.M114.599035.
31. Johnson, B. D., Geldenhuys, W. J., and Hazlehurst, L. A. (2020) The role of ERO1α in modulating cancer progression and immune escape, *J. Cancer Immunol. (Wilmington)*, **2**, 103-115, doi: 10.33696/cancerimmunol.2.023.
32. Arfin, S., Jha, N. K., Jha, S. K., Kesari, K. K., Ruokolainen, J., Roychoudhury, S., Rathi, B., and Kumar, D. (2021) Oxidative stress in cancer cell metabolism, *Antioxidants (Basel)*, **10**, 642, doi: 10.3390/antiox10050642.
33. El Sayed, S. M., Mahmoud, A. A., El Sawy, S. A., Abdelaal, E. A., Fouad, A. M., Yousif, R. S., Hashim, M. S., Hemdan, S. B., Kadry, Z. M., Abdelmoaty, M. A., Gabr, A. G., Omran, F. M., Nabo, M. M., and Ahmed, N. S. (2013) Warburg effect increases steady-state ROS condition in cancer cells through decreasing their antioxidant capacities (anticancer effects of 3-bromopyruvate through antagonizing Warburg effect), *Med. Hypotheses*, **81**, 866-870, doi: 10.1016/j.mehy.2013.08.024.
34. Patra, K. C., and Hay, N. (2014) The pentose phosphate pathway and cancer, *Trends Biochem. Sci.*, **39**, 347-354, doi: 10.1016/j.tibs.2014.06.005.
35. Luo, W., Hu, H., Chang, R., Zhong, J., Knabel, M., O'Meally, R., Cole, R. N., Pandey, A., and Semenza, G. L. (2011) Pyruvate kinase M2 is a PHD3-stimulated coactivator for hypoxia-inducible factor 1, *Cell*, **145**, 732-744, doi: 10.1016/j.cell.2011.03.054.
36. He, C., Danes, J. M., Hart, P. C., Zhu, Y., Huang, Y., de Abreu, A. L., O'Brien, J., Mathison, A. J., Tang, B., Frasor, J. M., Wakefield, L. M., Ganini, D., Stauder, E., Zielonka, J., Gantner, B. N., Urrutia, R. A., Gius, D., and Bonini, M. G. (2019) SOD2 acetylation on lysine 68 promotes stem cell reprogramming in breast cancer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **116**, 23534-23541, doi: 10.1073/pnas.1902308116.
37. Zucker, S. N., Fink, E. E., Bagati, A., Mannava, S., Bianchi-Smiraglia, A., Bogner, P. N., Wawrzyniak, J. A., Foley, C., Leonova, K. I., Grimm, M. J., Moparthy, K., Ionov, Y., Wang, J., Liu, S., Sexton, S.,

- Kandel, E. S., Bakin, A. V., Zhang, Y., Kaminski, N., Segal, B. H., and Nikiforov, M. A. (2014) Nrf2 amplifies oxidative stress via induction of Klf9, *Mol. Cell*, **53**, 916-928, doi: 10.1016/j.molcel.2014.01.033.
38. Hosseini, N., Kourosh-Arami, M., Nadjafi, S., and Ashtari, B. (2022) Structure, distribution, regulation, and function of splice variant isoforms of nitric oxide synthase family in the nervous system, *Curr. Protein Pept. Sci.*, **23**, 510-534, doi: 10.2174/1389203723666220823151326.
39. Förstermann, U., and Sessa, W. C. (2012) Nitric oxide synthases: regulation and function, *Eur. Heart J.*, **33**, 829-837, doi: 10.1093/eurheartj/ehr304.
40. Sakamuri, S. S. V. P., Sperling, J. A., Evans, W. R., Dholakia, M. H., Albuck, A. L., Sure, V. N., Satou, R., Mostany, R., and Katakam, P. V. G. (2020) Nitric oxide synthase inhibitors negatively regulate respiration in isolated rodent cardiac and brain mitochondria, *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, **318**, H295-H300, doi: 10.1152/ajpheart.00720.2019.
41. Wink, D. A., Hanbauer, I., Grisham, M. B., Laval, F., Nims, R. W., Laval, J., Cook, J., Pacelli, R., Liebmann, J., Krishna, M., Ford, P. C., and Mitchell, J. B. (1996) Chemical biology of nitric oxide: regulation and protective and toxic mechanisms, *Curr. Top. Cell. Regul.*, **34**, 159-187, doi: 10.1016/s0070-2137(96)80006-9.
42. Thomas, D. D., Ridnour, L. A., Isenberg, J. S., Flores-Santana, W., Switzer, C. H., Donzelli, S., Hussain, P., Vecoli, C., Paolocci, N., Ambs, S., Colton, C. A., Harris, C. C., Roberts, D. D., and Wink, D. A. (2008) The chemical biology of nitric oxide: Implications in cellular signaling, *Free Radic. Biol. Med.*, **45**, 18-31, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2008.03.020.
43. Wink, D. A., Cook, J. A., Kim, S., Vodovotz, Y., Pacelli, R., Krishna, M. C., Russo, A., Mitchell, J. B., Jourdeuil, D., Miles, A. M., and Grisham, M. B. (1997) Superoxide modulates the oxidation and nitrosation of thiols by nitric oxide derived reactive intermediates, *J. Biol. Chem.*, **272**, 11147-11151, doi: 10.1074/jbc.272.17.11147.
44. Choudhari, S. K., Chaudhary, M., Bagde, S., Gadgil, A. R., and Joshi, V. (2013) Nitric oxide and cancer: a review, *World J. Surg. Oncol.*, **11**, 118, doi: 10.1186/1477-7819-11-118.
45. Ambs, S., and Glynn, S. A. (2011) Candidate pathways linking inducible nitric oxide synthase to a basal-like transcription pattern and tumor progression in human breast cancer, *Cell Cycle*, **10**, 619-624, doi: 10.4161/cc.10.4.14864.
46. Zou, Z., Li, X., Sun, Y., Li, L., Zhang, Q., Zhu, L., Zhong, Z., Wang, M., Wang, Q., Liu, Z., Wang, Y., Ping, Y., Yao, K., Hao, B., and Liu, Q. (2020) NOS1 expression promotes proliferation and invasion and enhances chemoresistance in ovarian cancer, *Oncol. Lett.*, **19**, 2989-2995, doi: 10.3892/ol.2020.11355.
47. Jones, L. E. Jr, Ying, L., Hofseth, A. B., Jelezcova, E., Sobol, R. W., Ambs, S., Harris, C. C., Espey, M. G., Hofseth, L. J., and Wyatt, M. D. (2009) Differential effects of reactive nitrogen species on DNA base excision repair initiated by the alkyladenine DNA glycosylase, *Carcinogenesis*, **30**, 2123-2129, doi: 10.1093/carcin/bgp256.
48. Deryagina, V. P., Rizhova, N. I., Savluchinskaya, L. A., and Kirsanov, K. I. (2021) Role of nitric oxide and endothelial NO synthase in carcinogenesis, *Adv. Mol. Oncol.*, **8**, 29-39, doi: 10.17650/2313-805X-2021-8-2-29-39.
49. Bastian, N. R., Yim, C. Y., Hibbs, J. B., and Samlowski, W. E. (1994) Induction of iron-derived EPR signals in murine cancers by nitric oxide. Evidence for multiple intracellular targets, *J. Biol. Chem.*, **269**, 5127-5131, doi: 10.1016/S0021-9258(17)37664-0.
50. Vannini, F., Kashfi, K., and Nath, N. (2015) The dual role of iNOS in cancer, *Redox Biol.*, **6**, 334-343, doi: 10.1016/j.redox.2015.08.009.
51. Wu, X., Wang, Z. F., Xu, Y., Ren, R., Heng, B. L., and Su, Z. X. (2014) Association between three eNOS polymorphisms and cancer risk: a meta-analysis, *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, **15**, 5317-5324, doi: 10.7314/apjcp.2014.15.13.5317.
52. Kotake, M., Sato, K., Mogi, C., Tobo, M., Aoki, H., Ishizuka, T., Sunaga, N., Imai, H., Kaira, K., Hisada, T., Yamada, M., and Okajima, F. (2014) Acidic pH increases cGMP accumulation through the OGR1/phospholipase C/Ca²⁺/neuronal NOS pathway in N1E-115 neuronal cells, *Cell. Signal.*, **26**, 2326-2332, doi: 10.1016/j.cellsig.2014.07.010.
53. Penarando, J., Lopez-Sanchez, L. M., Mena, R., Guille-Luna, S., Conde, F., Hernández, V., Toledano, M., Gudiño, V., Raponi, M., Billard, C., Villar, C., Díaz, C., Gómez-Barbadillo, J., De la Haba-Rodríguez, J., Myant, K., Aranda, E., and Rodríguez-Ariza, A. (2018) A role for endothelial nitric oxide synthase in intestinal stem cell proliferation and mesenchymal colorectal cancer, *BMC Biol.*, **16**, 3, doi: 10.1186/s12915-017-0472-5.
54. Wang, H., Wang, L., Xie, Z., Zhou, S., Li, Y., Zhou, Y., and Sun, M. (2020) Nitric oxide (NO) and NO synthases (NOS)-based targeted therapy for colon cancer, *Cancers (Basel)*, **12**, 1881, doi: 10.3390/cancers12071881.
55. Thomas, D. D., and Wink, D. A. (2017) NOS2 as an emergent player in progression of cancer, *Antioxid. Redox Signal.*, **26**, 963-965, doi: 10.1089/ars.2016.6835.
56. Wink, D. A., Ridnour, L. A., Hussain, S. P., and Harris, C. C. (2008) The reemergence of nitric oxide and cancer, *Nitric Oxide*, **19**, 65-67, doi: 10.1016/j.niox.2008.05.003.
57. Li, C. Q., Pang, B., Kiziltepe, T., Trudel, L. J., Engelward, B. P., Dedon, P. C., and Wogan, G. N. (2006) Threshold effects of nitric oxide-induced toxicity and cellular responses in wild-type and p53-null human lymphoblastoid cells, *Chem. Res. Toxicol.*, **19**, 399-406, doi: 10.1021/tx050283e.

58. Hickok, J. R., and Thomas, D. D. (2010) Nitric oxide and cancer therapy: the emperor has NO clothes, *Curr. Pharm. Des.*, **16**, 381391, doi: 10.2174/138161210790232149.
59. Mintz, J., Vedenko, A., Rosete, O., Shah, K., Goldstein, G., Hare, J. M., Ramasamy, R., and Arora, H. (2021) Current advances of nitric oxide in cancer and anticancer therapeutics, *Vaccines (Basel)*, **9**, 94, doi: 10.3390/vaccines9020094.
60. Hara, M. R., and Snyder, S. H. (2006) Nitric oxide/GAPDH-Siah: a novel cell death cascade, *Cell. Mol. Neurobiol.*, **26**, 527-538, doi: 10.1007/s10571-006-9011-6.
61. Bechtel, T. J., and Weerapana, E. (2017) From structure to redox: the diverse functional roles of disulfides and implications in disease, *Proteomics*, **17**, 10, doi: 10.1002/pmic.201600391.
62. Gilbert, H. F. (1995) Thiol/disulfide exchange equilibria and disulfide bond stability, *Methods Enzymol.*, **251**, 8-28, doi: 10.1016/0076-6879(95)51107-5.
63. Gilbert, H. F. (1990) Molecular and cellular aspects of thiol-disulfide exchange, *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.*, **63**, 69-172, doi: 10.1002/9780470123096.ch2.
64. Kalinina, E. V., and Gavriluk, L. A. (2020) Glutathione synthesis in cancer cells, *Biochemistry (Moscow)*, **85**, 895-907, doi: 10.1134/S0006297920080052.
65. Szajewski, R. P., and Whitesides, G. M. (1980) Rate constants and equilibrium constants for thiol-disulfide interchange reactions involving oxidized glutathione, *J. Am. Chem. Soc.*, **102**, 2011-2026, doi: 10.1021/ja00526a042.
66. Barinova, K. V., Serebryakova, M. V., Muronetz, V. I., and Schmalhausen, E. V. (2017) S-glutathionylation of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase induces formation of C150-C154 intrasubunit disulfide bond in the active site of the enzyme, *Biochim. Biophys. Acta Gen. Subj.*, **1861**, 3167-3177, doi: 10.1016/j.bbagen.2017.09.008.
67. Arbault, S., Pantano, P., Sojic, N., Amatore, C., Best-Belpomme, M., Sarasin, A., and Vuillaume, M. (1997) Activation of the NADPH oxidase in human fibroblasts by mechanical intrusion of a single cell with an ultramicroelectrode, *Carcinogenesis*, **18**, 569-574, doi: 10.1093/carcin/18.3.569.
68. Deponte, M. (2017) The incomplete glutathione puzzle: just guessing at numbers and figures? *Antioxid. Redox Signal.*, **27**, 1130-1161, doi: 10.1089/ars.2017.7123.
69. Gallogly, M. M., and Mieyal, J. J. (2007) Mechanisms of reversible protein glutathionylation in redox signaling and oxidative stress, *Curr. Opin. Pharmacol.*, **7**, 381-391, doi: 10.1016/j.coph.2007.06.003.
70. Townsend, D. M., Manevich, Y., He, L., Xiong, Y., Bowers, R. R. Jr., Hutchens, S., and Tew, K. D. (2009) Nitrosative stress-induced s-glutathionylation of protein disulfide isomerase leads to activation of the unfolded protein response, *Cancer Res.*, **69**, 7626-7634, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-0493.
71. West, M. B., Hill, B. G., Xuan, Y. T., and Bhatnagar, A. (2006) Protein glutathiolation by nitric oxide: an intracellular mechanism regulating redox protein modification, *FASEB J.*, **20**, 1715-1717, doi: 10.1096/fj.06-5843fje.
72. Salmeen, A., Andersen, J. N., Myers, M. P., Meng, T. C., Hinks, J. A., Tonks, N. K., and Barford, D. (2003) Redox regulation of protein tyrosine phosphatase 1B involves a sulphenyl-amide intermediate, *Nature*, **423**, 769-773, doi: 10.1038/nature01680.
73. Townsend, D. M., Manevich, Y., He, L., Hutchens, S., Pazoles, C. J., and Tew, K. D. (2009) Novel role for glutathione S-transferase pi. Regulator of protein S-Glutathionylation following oxidative and nitrosative stress, *J. Biol. Chem.*, **284**, 436-445, doi: 10.1074/jbc.M805586200.
74. Singh, R. R., and Reindl, K. M. (2021) Glutathione S-transferases in cancer, *Antioxidants (Basel)*, **10**, 701, doi: 10.3390/antiox10050701.
75. Ścisłalska, M., and Milnerowicz, H. (2020) The role of GSTπ isoform in the cells signalling and anticancer therapy, *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.*, **24**, 8537-8550, doi: 10.26355/eurrev_202008_22650.
76. Kim, Y., and Jang, H. H. (2019) The role of peroxiredoxin family in cancer signaling, *J. Cancer Prev.*, **24**, 65-71, doi: 10.15430/JCP.2019.24.2.65.
77. Chae, H. Z., Oubrahim, H., Park, J. W., Rhee, S. G., and Chock, P. B. (2012) Protein glutathionylation in the regulation of peroxiredoxins: a family of thiol-specific peroxidases that function as antioxidants, molecular chaperones, and signal modulators, *Antioxid. Redox Signal.*, **16**, 506-523, doi: 10.1089/ars.2011.4260.
78. Manevich, Y., and Fisher, A. B. (2005) Peroxiredoxin 6, a 1-Cys peroxiredoxin, functions in antioxidant defense and lung phospho-lipid metabolism, *Free Radic. Biol. Med.*, **38**, 1422-1432, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2005.02.011.
79. Manevich, Y., Hutchens, S., Tew, K., and Townsend, D. (2013) Allelic variants of glutathione S-transferase P1-1 differentially mediate the peroxidase function of peroxiredoxin VI and alter membrane lipid peroxidation, *Free Radic. Biol. Med.*, **54**, 62-70, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2012.10.556.
80. Levine, A. J. (1997) p53, the cellular gatekeeper for growth and division, *Cell*, **88**, 323-331, doi: 10.1016/s0092-8674(00)81871-1.
81. Yusuf, M. A., Chuang, T., Bhat, G. J., and Srivenugopal, K. S. (2010) Cys-141 glutathionylation of human p53: Studies using specific polyclonal antibodies in cancer samples and cell lines, *Free Radic. Biol. Med.*, **49**, 908-917, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.06.020.
82. Sporn, M. B., and Liby, K. T. (2012) NRF2 and cancer: the good, the bad and the importance of context, *Nat. Rev. Cancer*, **12**, 564-571, doi: 10.1038/nrc3278.

83. Chang, L. C., Fan, C. W., Tseng, W. K., and Hua, C. C. (2021) The level of S-glutathionylated protein is a predictor for metastasis in colorectal cancer and correlated with those of Nrf2/Keap1 pathway, *Biomarkers*, **26**, 780-787, doi: 10.1080/1354750X.2021.1999503.
84. Bonay, M., Roux, A. L., Floquet, J., Retory, Y., Herrmann, J. L., Lofaso, F., and Deramaudt, T. B. (2015) Caspase-independent apoptosis in infected macrophages triggered by sulforaphane via Nrf2/p38 signaling pathways, *Cell Death Discov.*, **1**, 15022, doi: 10.1038/cddiscovery.2015.22.
85. Zhao, X., Dong, W., Gao, Y., Shin, D. S., Ye, Q., Su, L., Jiang, F., Zhao, B., and Miao, J. (2017) Novel indolyl-chalcone derivatives inhibit A549 lung cancer cell growth through activating Nrf-2/HO-1 and inducing apoptosis *in vitro* and *in vivo*, *Sci. Rep.*, **7**, 3919, doi: 10.1038/s41598-017-04411-3.
86. Wang, L., Qu, G., Gao, Y., Su, L., Ye, Q., Jiang, F., Zhao, B., and Miao, J. (2018) A small molecule targeting glutathione activates Nrf2 and inhibits cancer cell growth through promoting Keap-1 S-glutathionylation and inducing apoptosis, *RSC Adv.*, **8**, 792-804, doi: 10.1039/c7ra11935f.
87. Kawano, T., Inokuchi, J., Eto, M., Murata, M., and Kang, J. H. (2022) Protein kinase C (PKC) isozymes as diagnostic and prognostic biomarkers and therapeutic targets for cancer, *Cancers (Basel)*, **14**, 5425, doi: 10.3390/cancers14215425.
88. Benavides, F., Blando, J., Perez, C. J., Garg, R., Conti, C. J., DiGiovanni, J., and Kazanietz, M. G. (2011) Transgenic overexpression of PKC-epsilon in the mouse prostate induces preneoplastic lesions, *Cell Cycle*, **10**, 268-277, doi: 10.4161/cc.10.2.14469.
89. Wang, H., Gutierrez-Uzquiza, A., Garg, R., Barrio-Real, L., Abera, M. B., Lopez-Haber, C., Rosemblyt, C., Lu, H., Abba, M., and Kazanietz, M. G. (2014) Transcriptional regulation of oncogenic protein kinase C (PKC) by STAT1 and Sp1 proteins, *J. Biol. Chem.*, **289**, 19823-19838, doi: 10.1074/jbc.M114.548446.
90. Ward, N. E., Stewart, J. R., Ioannides, A. C. G., and O'Brian, C. A. (2000) Oxidant-induced S-glutathiolation inactivates protein kinase C- α (PKC- α): a potential mechanism of PKC isozyme regulation, *Biochemistry*, **39**, 10319-10329, doi: 10.1021/bi000781g.
91. Manuel, A., Qian, X., van de Wetering, C., Chia, S. B., Aboushousha, R., van der Velden, J., Dixon, A. E., Poynter, M., Lam, Y.-W., Irvin, C. G., and Janssen-Heininger, Y. M. W. (2019) S-glutathionylation of pyruvate kinase M2 is associated with metabolic reprogramming and cytokine production in the development of allergic obese airway disease, in *A21, Advances in Asthma Pathogenesis*, A1048, doi: 10.1164/ajrcm-conference.2019.199.1_MeetingAbstracts.A1048.
92. Seo, M., and Lee Y. H. (2014) PFKFB3 regulates oxidative stress homeostasis via its S-glutathionylation in cancer, *J. Mol. Biol.*, **426**, 830-842, doi: 10.1016/j.jmb.2013.11.021.
93. Adachi, T., Pimentel, D. R., Heibeck, T., Hou, X., Lee, Y. J., Jiang, B., Ido, Y., and Cohen, R. A. (2004) S-glutathiolation of Ras mediates redox-sensitive signaling by angiotensin II in vascular smooth muscle cells, *J. Biol. Chem.*, **279**, 29857-29862, doi: 10.1074/jbc.M313320200.
94. Boudreau, M. W., Peh, J., Hergenrother, P. J. (2019) Procaspase-3 overexpression in cancer: a paradoxical observation with therapeutic potential, *ACS Chem. Biol.*, **14**, 2335-2348, doi: 10.1021/acscchembio.9b00338.
95. Beer, S. M., Taylor, E. R., Brown, S. E., Dahm, C. C., Costa, N. J., Runswick, M. J., and Murphy, M. P. (2004) Glutaredoxin 2 catalyzes the reversible oxidation and glutathionylation of mitochondrial membrane thiol proteins: Implications for mitochondrial redox regulation and antioxidant defence, *J. Biol. Chem.*, **279**, 47939-47951, doi: 10.1074/jbc.M408011200.
96. Ukuwela, A. A., Bush, A. I., Wedd, A. G., and Xiao, Z. (2017) Reduction potentials of protein disulfides and catalysis of glutathionylation and deglutathionylation by glutaredoxin enzymes, *Biochem. J.*, **474**, 3799-3815, doi: 10.1042/BCJ20170589.
97. Pal, D., Rai, A., Checker, R., Patwardhan, R. S., Singh, B., Sharma, D., and Sandur, S. K. (2021) Role of protein S-Glutathionylation in cancer progression and development of resistance to anti-cancer drugs, *Arch. Biochem. Biophys.*, **704**, 108890, doi: 10.1016/j.abb.2021.108890.
98. Findlay, V. J., Townsend, D. M., Morris, T. E., Fraser, J. P., He, L., and Tew, K. D. (2006) A novel role for human sulfiredoxin in the reversal of glutathionylation, *Cancer Res.*, **66**, 6800-6806, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-06-0484.
99. Park, J. W., Mieyal, J. J., Rhee, S. G., and Chock, P. B. (2009) Deglutathionylation of 2-Cys peroxiredoxin is specifically catalyzed by sulfiredoxin, *J. Biol. Chem.*, **284**, 23364-23374, doi: 10.1074/jbc.M109.021394.
100. Menon, D., and Board, P. G. (2013) A role for glutathione transferase Omega 1 (GSTO1-1) in the glutathionylation cycle, *J. Biol. Chem.*, **288**, 25769-25779, doi: 10.1074/jbc.M113.487785.
101. Hughes, M. M., Hooftman, A., Angiari, S., Tum-mala, P., Zaslona, Z., Runtsch, M. C., McGettrick, A. F., Sutton, C. E., Diskin, C., Rooke, M., Takahashi, S., Sundararaj, S., Casarotto, M. G., Dahlstrom, J. E., Palsson-McDermott, E. M., Corr, S. C., Mills, K. H. G., Preston, R. J. S., Neamati, N., Xie, Y., Baell, J. B., Board, P. G., and O'Neill, L. A. J. (2019) Glutathione transferase omega-1 regulates NLRP3 inflammasome activation through NEK7 deglutathionylation, *Cell Rep.*, **29**, 151-161.e5, doi: 10.1016/j.celrep.2019.08.072.
102. Ruoppolo, M., and Freedman, R. B. (1995) Refolding by disulfide isomerization: the mixed disulfide between ribonuclease T1 and glutathione as a model refolding

- substrate, *Biochemistry*, **34**, 9380-9388, doi: 10.1021/bi00029a014.
103. Yang, S., Jackson, C., Karapetyan, E., Dutta, P., Kermah, D., Wu, Y., Wu, Y., Schloss, J., and Vadgama, J. V. (2022) Roles of protein disulfide isomerase in breast cancer, *Cancers (Basel)*, **14**, 745, doi: 10.3390/cancers14030745.
 104. Martínez-Ruiz, A., Araújo, I. M., Izquierdo-Álvarez, A., Hernansanz-Agustín, P., Lamas, S., and Serrador, J. (2013) Specificity in S-nitrosylation: a short-range mechanism for NO signaling? *Antioxid. Redox Signal.*, **19**, 1220-1235, doi: 10.1089/ars.2012.5066.
 105. Nakamura, T., and Lipton, S. A. (2016) Protein S-nitrosylation as a therapeutic target for neurodegenerative diseases, *Trends Pharmacol. Sci.*, **37**, 73-84, doi: 10.1016/j.tips.2015.10.002.
 106. Ravi, K., Brennan, L. A., Levic, S., Ross, P. A., and Black, S. M. (2004) S-nitrosylation of endothelial nitric oxide synthase is associated with monomerization and decreased enzyme activity, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 2619-2624, doi: 10.1073/pnas.0300464101.
 107. Jia, J., Arif, A., Terenzi, F., Willard, B., Plow, E. F., Hazen, S. L., and Fox, P. L. (2014) Target-selective protein S-nitrosylation by sequence motif recognition, *Cell*, **159**, 623-634, doi: 10.1016/j.cell.2014.09.032.
 108. Möller, M. N., Li, Q., Vitturi, D. A., Robinson, J. M., Lancaster, J. R. J., and Denicola, A. (2007) Membrane "lens" effect: focusing the formation of reactive nitrogen oxides from the *NO/O₂ reaction, *Chem. Res. Toxicol.*, **20**, 709-714, doi: 10.1021/tx700010h.
 109. Bartberger, M. D., Liu, W., Ford, E., Miranda, K. M., Switzer, C., Fukuto, J. M., Farmer, P. J., Wink, D. A., and Houk, K. N. (2002) The reduction potential of nitric oxide (NO) and its importance to NO biochemistry, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 10958-10963, doi: 10.1073/pnas.162095599.
 110. Nakamura, T., and Lipton, S. A. (2013) Emerging role of protein-protein transnitrosylation in cell signaling pathways, *Antioxid. Redox Signal.*, **18**, 239-249, doi: 10.1089/ars.2012.4703.
 111. Broniowska, K. A., Diers, A. R., and Hogg, N. (2013) S-nitrosoglutathione, *Biochim. Biophys. Acta*, **1830**, 3173-3181, doi: 10.1016/j.bbagen.2013.02.004.
 112. Giri, S., Rattan, R., Deshpande, M., Maguire, J. L., Johnson, Z., Graham, R. P., and Shridhar, V. (2014) Preclinical therapeutic potential of a nitrosylating agent in the treatment of ovarian cancer, *PLoS One*, **9**, e97897, doi: 10.1371/journal.pone.0097897.
 113. Marozkina, N. V., and Gaston, B. (2012) S-Nitrosylation signaling regulates cellular protein interactions, *Biochim. Biophys. Acta*, **1820**, 722-729, doi: 10.1016/j.bbagen.2011.06.017.
 114. Kaliyaperumal, K., Sharma, A. K., McDonald, D. G., Dhindsa, J. S., Yount, C., Singh, A. K., Won, J. S., and Singh, I. (2015) S-Nitrosoglutathione-mediated STAT3 regulation in efficacy of radiotherapy and cisplatin therapy in head and neck squamous cell carcinoma, *Redox Biol.*, **6**, 41-50, doi: 10.1016/j.redox.2015.07.001.
 115. Zhang, Y., Sun, C., Xiao, G., Shan, H., Tang, L., Yi, Y., Yu, W., and Gu, Y. (2019) S-nitrosylation of the Peroxiredoxin-2 promotes S-nitrosoglutathione-mediated lung cancer cells apoptosis via AMPK-SIRT1 pathway, *Cell Death Dis.*, **10**, 329, doi: 10.1038/s41419-019-1561-x.
 116. Vanin, A. F., Ostrovskaya, L. A., Korman, D. B., Rykova, V. A., Bluchterova, N. V., and Fomina, M. M. (2020) The antitumor properties of dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands and S-nitrosoglutathione in experiments, *Biophysics*, **65**, 39-50, doi: 10.1134/s0006350920010236.
 117. Hara, M. R., Agrawal, N., Kim, S. F., Cascio, M. B., Fujimuro, M., Ozeki, Y., Takahashi, M., Cheah, J. H., Tankou, S. K., Hester, L. D., Ferris, C. D., Hayward, S. D., Snyder, S. H., and Sawa, A. (2005) S-nitrosylated GAPDH initiates apoptotic cell death by nuclear translocation following Siah1 binding, *Nat. Cell Biol.*, **7**, 665-674, doi: 10.1038/ncb1268.
 118. Kornberg, M. D., Sen, N., Hara, M. R., Juluri, K. R., Nguyen, J. V., Snowman, A. M., Law, L., Hester, L. D., and Snyder, S. H. (2010) GAPDH mediates nitrosylation of nuclear proteins, *Nat. Cell Biol.*, **12**, 1094-1100, doi: 10.1038/ncb2114.
 119. Kohr, M. J., Murphy, E., and Steenbergen, C. (2014) Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase acts as a mitochondrial trans-S-nitrosylase in the heart, *PLoS One*, **9**, e111448, doi: 10.1371/journal.pone.0111448.
 120. Nakajima, H., Itakura, M., Kubo, T., Kaneshige, A., Harada, N., Izawa, T., Azuma, Y. T., Kuwamura, M., Yamaji, R., and Takeuchi, T. (2017) Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) aggregation causes mitochondrial dysfunction during oxidative stress-induced cell death, *J. Biol. Chem.*, **292**, 4727-4742, doi: 10.1074/jbc.M116.759084.
 121. Wen, Y. Y., Yang, Z. Q., Song, M., Li, B. L., Yao, X. H., Chen, X. L., Zhao, J., Lu, Y. Y., Zhu, J. J., and Wang, E. H. (2010) The expression of SIAH1 is down-regulated and associated with Bim and apoptosis in human breast cancer tissues and cells, *Mol. Carcinog.*, **49**, 440-449, doi: 10.1002/mc.20615.
 122. Hsu, K., Champaiboon, C., Guenther, B. D., Sorenson, B. S., Khammanivong, A., Ross, K. F., Geczy, C. L., and Herzberg, M. C. (2009) Anti-infective protective properties of s100 calgranulins, *Antiinflamm. Antiallergy Agents Med. Chem.*, **8**, 290-305, doi: 10.2174/187152309789838975.
 123. Lim, S. Y., Raftery, M., Cai, H., Hsu, K., Yan, W. X., Hsieh, H. L., Watts, R. N., Richardson, D., Thomas, S., Perry, M., and Geczy, C. L. (2008) S-nitrosylated S100A8: novel anti-inflammatory properties, *J. Immunol.*, **181**, 5627-5636, doi: 10.4049/jimmunol.181.8.5627.
 124. Baritaki, S., Huerta-Yepe, S., Sahakyan, A., Karagiannides, I., Bakirtzi, K., Jazirehi, A., and

- Bonavida, B. (2010) Mechanisms of nitric oxide-mediated inhibition of EMT in cancer: inhibition of the metastasis-inducer Snail and induction of the metastasis-suppressor RKIP, *Cell Cycle*, **9**, 4931-4940, doi: 10.4161/cc.9.24.14229.
125. Fernando, V., Zheng, X., Walia, Y., Sharma, V., Letson, J., and Furuta, S. (2019) S-nitrosylation: an emerging paradigm of redox signaling, *Antioxidants (Basel)*, **8**, 404, doi: 10.3390/antiox8090404.
126. Staab, C. A., Alander, J., Brandt, M., Lengqvist, J., Morgenstern, R., Grafström, R. C., and Höög, J. O. (2008) Reduction of S-nitrosoglutathione by alcohol dehydrogenase 3 is facilitated by substrate alcohols via direct cofactor recycling and leads to GSH-controlled formation of glutathione transferase inhibitors, *Biochem. J.*, **413**, 493-504, doi: 10.1042/BJ20071666.
127. Wei, W., Li, B., Hanes, M. A., Kakar, S., Chen, X., and Liu, L. (2010) Snitrosylation from GSNOR deficiency impairs DNA repair and promotes hepatocarcinogenesis, *Sci. Transl. Med.*, **2**, 19ra13, doi: 10.1126/scitranslmed.3000328.
128. Canas, A., Lopez-Sanchez, L. M., Penarando, J., Valverde, A., Conde, F., Hernández, V., Fuentes, E., López-Pedraza, C., de la Haba-Rodríguez, J. R., Aranda, E., and Rodríguez-Ariza, A. (2016) Altered S-nitrosothiol homeostasis provides a survival advantage to breast cancer cells in HER2 tumors and reduces their sensitivity to trastuzumab, *Biochim. Biophys. Acta*, **1862**, 601-610, doi: 10.1016/j.bbadis.2016.02.005.
129. Hoshida, Y., Villanueva, A., Kobayashi, M., Peix, J., Chiang, D. Y., Hernández, V., Fuentes, E., López-Pedraza, C., de la Haba-Rodríguez, J. R., Aranda, E., and Rodríguez-Ariza, A. (2008) Gene expression in fixed tissues and outcome in hepatocellular carcinoma, *N. Engl. J. Med.*, **359**, 1995-2004, doi: 10.1056/NEJMoa0804525.
130. Rizza, S., Di Leo, L., Pecorari, C., Giglio, P., Faienza, F., Montagna, C., Maiani, E., Puglia, M., Bosisio, F. M., Petersen, T. S., Lin, L., Rissler, V., Vilorio, J. S., Luo, Y., Papaleo, E., De Zio, D., Blagoev, B., and Filomeni, G. (2023) GSNOR deficiency promotes tumor growth via FAK1 S-nitrosylation, *Cell Rep.*, **42**, 111997, doi: 10.1016/j.celrep.2023.111997.
131. Benhar, M. (2015) Nitric oxide and the thioredoxin system: a complex interplay in redox regulation, *Biochim. Biophys. Acta*, **1850**, 2476-2484, doi: 10.1016/j.bbagen.2015.09.010.
132. Benhar, M., Forrester, M. T., Hess, D. T., and Stamler, J. S. (2008) Regulated protein denitrosylation by cytosolic and mitochondrial thioredoxins, *Science*, **320**, 1050-1054, doi: 10.1126/science.1158265.
133. Wu, C., Liu, T., Chen, W., Oka, S., Fu, C., Jain, M. R., Parrott, A. M., Baykal, A. T., Sadoshima, J., and Li, H. (2010) Redox regulatory mechanism of transnitrosylation by thioredoxin, *Mol. Cell. Proteomics*, **9**, 2262-2275, doi: 10.1074/mcp.M110.000034.
134. Sengupta, R., Ryter, S. W., Zuckerbraun, B. S., Tzeng, E., Billiar, T. R., and Stoyanovsky, D. A. (2007) Thioredoxin catalyzes the denitrosation of low-molecular mass and protein S-nitrosothiols, *Biochemistry*, **46**, 8472-8483, doi: 10.1021/bi700449x.
135. Mitchell, D. A., Morton, S. U., Fernhoff, N. B., and Marletta, M. A. (2007) Thioredoxin is required for S-nitrosation of procaspase-3 and the inhibition of apoptosis in Jurkat cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 11609-11614, doi: 10.1073/pnas.0704898104.
136. Stoyanovsky, D. A., Scott, M. J., and Billiar, T. R. (2013) Glutathione and thioredoxin type 1 cooperatively denitrosate HepG2 cells-derived cytosolic S-nitrosoproteins, *Org. Biomol. Chem.*, **11**, 4433-4437, doi: 10.1039/c3ob40809d.
137. Ren, X., Sengupta, R., Lu, J., Lundberg, J. O., and Holmgren, A. (2019) Characterization of mammalian glutaredoxin isoforms as S-denitrosylases, *FEBS Lett.*, **593**, 1799-1806, doi: 10.1002/1873-3468.13454.
138. Sengupta, R., and Holmgren, A. (2012) The role of thioredoxin in the regulation of cellular processes by S-nitrosylation, *Biochim. Biophys. Acta*, **1820**, 689-700, doi: 10.1016/j.bbagen.2011.08.012.
139. Mnatsakanyan, R., Markoutsas, S., Walbrunn, K., Roos, A., Verhelst, S. H. L., and Zahedi, R. P. (2019) Proteome-wide detection of S-nitrosylation targets and motifs using bioorthogonal cleavable-linker-based enrichment and switch technique, *Nat. Commun.*, **10**, 2195, doi: 10.1038/s41467-019-10182-4.
140. Okamoto, S., Nakamura, T., Cieplak, P., Chan, S. F., Kalashnikova, E., Liao, L., Saleem, S., Han, X., Clemente, A., Nutter, A., Sances, S., Brechtel, C., Haus, D., Haun, F., Sanz-Blasco, S., Huang, X., Li, H., Zaremba, J. D., Cui, J., Gu, Z., Nikzad, R., Harrop, A., McKercher, S. R., Godzik, A., Yates, J. R. 3rd, and Lipton, S. A. (2014) S-nitrosylation-mediated redox transcriptional switch modulates neurogenesis and neuronal cell death, *Cell Rep.*, **8**, 217-228, doi: 10.1016/j.celrep.2014.06.005.
141. Veron, D., Aggarwal, P. K., Velazquez, H., Kashgarian, M., Moeckel, G., and Tufro, A. (2014) Podocyte-specific VEGF-a gain of function induces nodular glomerulosclerosis in eNOS null mice, *J. Am. Soc. Nephrol.*, **25**, 1814-1824, doi: 10.1681/ASN.2013070752.
142. Sharma, V., Fernando, V., Letson, J., Walia, Y., Zheng, X., Fackelman, D., and Furuta, S. (2021) S-nitrosylation in tumor microenvironment, *Int. J. Mol. Sci.*, **22**, 4600, doi: 10.3390/ijms22094600.
143. Plenchette, S., Romagny, S., Laurens, V., and Bettaieb, A. (2015) S-Nitrosylation in TNF superfamily signaling pathway: implication in cancer, *Redox Biol.*, **6**, 507-515, doi: 10.1016/j.redox.2015.08.019.
144. Tang, Z., Bauer, J. A., Morrison, B., and Lindner, D. J. (2006) Nitrosylcobalamin promotes cell death via S nitrosylation of Apo2L/TRAIL receptor DR4, *Mol. Cell. Biol.*, **26**, 5588-5594, doi: 10.1128/MCB.00199-06.

145. Leon-Bollotte, L., Subramaniam, S., Cauvard, O., Plenchette-Colas, S., Paul, C., Godard, C., Martinez-Ruiz, A., Legembre, P., Jeannin, J. F., and Bettaieb, A. (2011) S-nitrosylation of the death receptor fas promotes fas ligand-mediated apoptosis in cancer cells, *Gastroenterology*, **140**, 2009-2018, doi: 10.1053/j.gastro.2011.02.053.
146. Hongo, F., Garban, H., Huerta-Yepez, S., Vega, M., Jazirehi, A. R., Mizutani, Y., Miki, T., and Bonavida, B. (2005) Inhibition of the transcription factor Yin Yang 1 activity by S-nitrosation, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **336**, 692-701, doi: 10.1016/j.bbrc.2005.08.150.
147. Wilczynski, J., Duechler, M., and Czyz, M. (2011) Targeting NF- κ B and HIF-1 pathways for the treatment of cancer: part I, *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)*, **59**, 289-299, doi: 10.1007/s00005-011-0131-4.
148. Egloff, A. M., and Grandis, J. R. (2011) Response to combined molecular targeting: defining the role of P-STAT3, *Clin. Cancer Res.*, **17**, 393-395, doi: 10.1158/1078-0432.CCR-10-2925.
149. Jin, L., Cao, Y., Zhang, T., Wang, P., Ji, D., Liu, X., Shi, H., Hua, L., Yu, R., and Gao, S. (2018) Effects of ERK1/2 S-nitrosylation on ERK1/2 phosphorylation and cell survival in glioma cells, *Int. J. Mol. Med.*, **41**, 1339-1348, doi: 10.3892/ijmm.2017.3334.

S-GLUTATHIONYLATION AND S-NITROSYLATION AS MODULATORS OF REDOX-DEPENDENT PROCESSES IN CANCER CELL

Review

E. V. Kalinina* and M. D. Novichkova

*Peoples's Friendship University of Russia (RUDN University),
117198 Moscow, Russia; e-mail: kalinina-ev@rudn.ru*

The development of oxidative/nitrosative stress associated with the activation of oncogenic pathways is a consequence of an increase in the level of generation of reactive oxygen and nitrogen species (ROS/RNS) in tumor cells. The action of ROS/RNS is dual: high levels cause cell death and limit tumor growth at certain phases of malignant neoplasm development, while low concentrations allow oxidative/nitrosative modifications of key redox-dependent residues in regulatory proteins. The reversibility of such modifications as S-glutathionylation/S-nitrosylation, which occur through the electrophilic attack of ROS/RNS on the nucleophilic residues of Cys, provides redox switching in the activity of signaling proteins and the ability to control the processes of proliferation and programmed death. The level of S-glutathionylated and S-nitrosylated proteins is controlled by the balance between S-glutathionylation/deglutathionylation and S-nitrosylation/denitrosylation, the ratio of which depends on the cellular redox status. The degree of S-glutathionylation and S-nitrosylation of protein targets and their ratio largely determines the state and directions of signaling pathways in cancer cells. The review discusses the features of S-glutathionylation and S-nitrosylation reactions in cancer cells, the balance of systems that control their activity and their relationship with redox-dependent processes and tumor growth.

Keywords: reactive oxygen and nitrogen species, oxidative and nitrosative stress, cancer cells, S-glutathionylation and deglutathionylation, S-nitrosylation, *trans*-nitrosylation, denitrosylation