

Повышение экспрессии генов аутофагии и Nrf2-зависимого сигнального пути новыми монофенольными антиоксидантами зависит от их структуры

С.Е. Храпов¹, П.М. Кожин¹, М.В. Храпова¹, А.Е. Серых¹, Л.П. Ромах¹, В.С. Павлов¹, А.В. Чечушков¹, С.В. Хольшин², Н.К. Зенков¹, Е.Б. Меньщикова¹

¹ ФИЦ фундаментальной и трансляционной медицины
630060, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

² Новосибирский государственный педагогический университет
630126, г. Новосибирск, ул. Виллюйская, 28

Резюме

В качестве потенциальных средств, применяемых для профилактики, лечения и поддерживающей терапии рака, а также преодоления химиорезистентности, в определенных условиях могут служить как активаторы, так и ингибиторы Nrf2-зависимого сигналинга и аутофагии. Нами разрабатывается панель структурно-родственных синтетических монофенольных соединений, помимо непосредственного антиоксидантного действия обладающих способностью воздействовать на внутриклеточные сигнальные пути и процессы, в том числе вышеуказанные. Целью настоящей работы послужило изучение зависимости между их структурой и способностью влиять на экспрессию генов аутофагии и Nrf2-опосредованных процессов. **Материал и методы.** Синтезированы пять оригинальных гидрофильных фенольных соединений структурно взаимосвязанного ряда, препаратом сравнения послужил прототипический индуктор системы Keap1/Nrf2/ARE, монозамещенный фенол *трет*-бутилгидрохинон (tBHQ). В работе использовали культуры мышинных клеток карциномы легких Льюис (LLC) и аденокарциномы молочной железы человека MCF-7, с исследуемыми соединениями в концентрации 20 мкМ клетки инкубировали в течение 24 часов. Изменение экспрессии мРНК генов *Nrf2*, *Nqo1*, *LC3b* и *Sqstm1*, кодирующих соответственно Nrf2, NAD(P)H:хинооксидоредуктазу-1, LC3B, p62/секвестосому-1, определяли методом TaqMan ПЦР в режиме реального времени. **Результаты и их обсуждение.** Структурно-родственные синтетические монофенолы эффективно индуцировали систему Keap1/Nrf2/ARE в клетках LLC и MCF-7, увеличивая экспрессию Nrf2-подконтрольного гена *Nqo1*, и неоднозначно воздействовали на транскрипцию генов белков, опосредующих аутофагию: содержание мРНК белка LC3B не изменялось, в то время как экспрессия мРНК белка p62, влияющего на работу обеих систем (процессов), увеличивалась лишь под действием *орто*-монозамещенного фенола с атомом «активной» серы в *пара*-пропильном заместителе TC-13 и его структурного аналога TC-12 с укороченным на одно метиленовое звено *пара*-заместителем. Можно предположить, что обнаруженный эффект либо свидетельствует о способности TC-13 и TC-12 как индуцировать систему Keap1/Nrf2/ARE, так и стимулировать аутофагию, либо отражает опосредованную соединениями взаимно усиливающую перекрестную активацию данных процессов.

Ключевые слова: антиоксиданты, сигнальная система Keap1/Nrf2/ARE, аутофагия, *Nrf2*, *Nqo1*, *LC3b*, *Sqstm1*.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Исследование выполнено по Государственному заданию в рамках бюджетной темы № АААА-А20-120013090021-1 с использованием оборудования ЦКП «Современные оптические системы».

Автор для переписки: Меньщикова Е.Б., e-mail: lemen@centercem.ru

Для цитирования: Храпов С.Е., Кожин П.М., Храпова М.В., Серых А.Е., Ромах Л.П., Павлов В.С., Чечушков А.В., Хольшин С.В., Зенков Н.К., Меньщикова Е.Б. Повышение экспрессии генов аутофагии и Nrf2-зависимого сигнального пути новыми монофенольными антиоксидантами зависит от их структуры. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2021; 41 (3): 25–31. doi: 10.18699/SSMJ20210303

Increased expression of autophagy and Nrf2-dependent signaling pathway genes by new monophenolic antioxidants depends on their structure

S.E. Khrapov¹, P.M. Kozhin¹, M.V. Khrapova¹, A.E. Serykh¹, L.P. Romakh¹, V.S. Pavlov¹, A.V. Chechushkov¹, S.V. Kholshin², N.K. Zenkov¹, E.B. Menshchikova¹

¹ Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine

630117, Novosibirsk, Timakov str., 2

² Novosibirsk State Pedagogical University

630126, Novosibirsk, Vilyuiskaya str., 28

Abstract

Under certain conditions, both activators and inhibitors of Nrf2-dependent signaling and autophagy can serve as potential agents for the prevention, treatment, and maintenance therapy of cancer, as well as overcoming chemoresistance. We are developing a panel of structurally related synthetic monophenolic compounds, in addition to a direct antioxidant effect, having the ability to affect intracellular signaling pathways and processes, including the above mentioned. Aim of the study was to investigate the relationship between its structure and the ability to influence the expression of autophagy and Nrf2 pathway genes. **Material and methods.** Five original hydrophilic phenolic structurally related compounds were synthesized; the prototypical inductor of the Keap1/Nrf2/ARE system, monosubstituted phenol tert-butylhydroquinone (tBHQ), served as a reference substance. We used cultures of murine Lewis lung carcinoma (LLC) and human breast adenocarcinoma MCF-7 cells, with the test compounds at a concentration of 20 µM cells were incubated for 24 hours. Changes in mRNA expression of *Nrf2*, *Nqo1*, *LC3b*, and *Sqstm1* genes encoding Nrf2, NAD(P)H:quinone oxidoreductase-1, LC3B, p62/sequestosome-1, respectively, were determined by TaqMan real-time PCR. **Results and discussion.** Structurally related synthetic monophenols effectively induced the Keap1/Nrf2/ARE system in LLC and MCF-7 cells, increasing the expression of the Nrf2-driven *Nqo1* gene, and ambiguously affected the transcription of genes of proteins mediating autophagy: the content of mRNA of the LC3B protein did not change, while the expression of mRNA of the p62 protein, which affects the operation of both systems (processes), is increased only by the action of *ortho*-monosubstituted phenol with an «active» sulfur atom in the *para*-propyl substituent TS-13 and its structural analogue TS-12 with a *para*-substituent shortened by one methylene. It can be assumed that the observed effect either indicates the ability of TS-13 and TS-12 both to induce the Keap1/Nrf2/ARE system and to stimulate autophagy, or reflects a compound-mediated mutually reinforcing cross-activation of these processes.

Key words: antioxidants, Keap1/Nrf2/ARE signaling system, NAD(P)H:quinone oxidoreductase-1, *Nrf2*, *Nqo1*, *LC3b*, *Sqstm1*.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments. The study was carried out under the state assignment within the framework of the budget theme No. AAAA-A20-120013090021-1 using the equipment from CCU «Modern optical systems».

Correspondence author: Menshchikova E.B., e-mail: lemen@centercem.ru

Citation: Khrapov S.E., Kozhin P.M., Khrapova M.V., Serykh A.E., Romakh L.P., Pavlov V.S., Chechushkov A.V., Kholshin S.V., Zenkov N.K., Menshchikova E.B. Increased expression of autophagy and Nrf2-dependent signaling pathway genes by new monophenolic antioxidants depends on their structure. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal* = *Siberian Scientific Medical Journal*. 2021; 41 (3): 25–31 [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20210303

Введение

Подавляющее большинство патологических процессов, в том числе опухолевый рост, сопряжено с изменениями эндогенного редокс-баланса. При этом зачастую невозможно достоверно установить причинно-следственную связь и последовательность событий, лежащих в основе этиопатогенеза заболевания: привел ли к этому некий сбой в сложной системе взаимоотношений

между прооксидантами и антиоксидантами, или нарушены тонкие механизмы физиологической регуляторной функции активированных кислородных метаболитов (в том числе в силу вмешательства в контроль за их генерацией), или, как в случае со злокачественными новообразованиями, переродившиеся клетки берут на вооружение собственные способы защиты хозяина и противостоят попыткам их элиминировать.

Редокс-чувствительная сигнальная система, представленная транскрипционным фактором Nrf2, его ингибитором Keap1 и олигонуклеотидной последовательностью ARE, не только непосредственно регулирует внутриклеточный гомеостаз (функционально активная ARE содержится в промоторах более 600 генов, в том числе кодирующих антиоксидантные и детоксицирующие ферменты), но и контролирует работу широкого спектра регуляторных путей и систем, а также метаболических процессов с участием фосфатаз и киназ [1–3]. При этом можно утверждать, что Nrf2 проявляет активность как онкогена, так и опухолевого супрессора, в зависимости от контекста. С одной стороны, система Keap1/Nrf2/ARE традиционно считается супрессором опухолевого роста в силу своей цитопротекторной функции, способствующей снижению частоты канцерогенных мутаций, и, таким образом, интенсивно изучается в контексте химиопрофилактики рака; кроме того, активация Nrf2-зависимого пути в иммунных клетках хозяина эффективно подавляет рост злокачественных клеток [4, 5]. С другой стороны, показана aberrantная активация Nrf2 в так называемых Nrf2-зависимых злокачественных новообразованиях, связанная с соматическими мутациями в генах Keap1 или Nrf2, эффектом онкометаболитов, пропуском экзонов, метилированием промоторов либо с индукцией других механизмов, которые нарушают связывание транскрипционного фактора с его ингибитором, благодаря чему клетки таких опухолей способны выживать в условиях агрессии со стороны опухоленосителя.

Двойственную роль в канцерогенезе играет и аутофагия [6, 7]. Ее угнетение на начальной стадии канцерогенеза значительно повышает опухолевую трансформацию: дефекты в генах различных компонентов аутофагии выявляются в 50 % опухолей человека [8]; снижение содержания рецепторов аутофагии стимулирует спонтанное образование опухолей в разных органах [9, 10]. Однако в последующем аутофагия помогает опухолевым клеткам выживать в условиях гипоксии, метаболических и терапевтических стрессовых воздействий, при этом ингибирование аутофагии усиливает апоптоз [11]. Взаимосвязь аутофагии с системой Keap1/Nrf2/ARE также важна для антиоксидантной защиты опухолевых клеток [9].

Таким образом, очевидно, что в качестве потенциальных средств, применяемых для профилактики, лечения и поддерживающей терапии рака, а также преодоления химиорезистентности, в определенных условиях могут служить как активаторы, так и ингибиторы Nrf2-зависимого сигналинга и аутофагии, их позитивный или неблагоприятный

эффект нуждается в строгом контроле. Нами разрабатывается панель структурно-родственных синтетических монофенольных соединений, помимо непосредственного антиоксидантного действия обладающих способностью воздействовать на внутриклеточные сигнальные пути и процессы, в том числе вышеуказанные [2, 12, 13]. Целью настоящей работы послужило изучение зависимости между их структурой и способностью влиять на экспрессию генов аутофагии и Nrf2-опосредованных процессов.

Материал и методы

Синтезированы пять оригинальных гидрофильных фенольных соединений структурно взаимосвязанного ряда: 3-(3'-*трет*-бутил-4'-гидроксифенил)этилтиосульфат натрия (ТС-12), 3-(3'-*трет*-бутил-4'-гидроксифенил)пропилтиосульфат натрия (ТС-13), 3-(3',5'-ди-*трет*-бутил-4'-гидроксифенил)пропилтиосульфат натрия (ТС-17), 3-(3'-*трет*-бутил-4'-гидроксифенил)пропилселеносульфат натрия (СеС-13) и 3-(3'-*трет*-бутил-4'-гидроксифенил)пропилсульфонат натрия (С-13). Соединения получали из 2,6-ди-*трет*-бутилфенола по последовательности превращений, описанной ранее [12, 14], их строение подтверждали данными элементного анализа, ЯМР-, ИК- и УФ-спектроскопии. Препаратом сравнения послужил прототипический индуктор системы Keap1/Nrf2/ARE, монозамещенный фенол *трет*-бутилгидрохинон (tBHQ). В работе использовали клетки эпидермоидной карциномы легких мыши (карцинома легких Льюис, LLC) и клетки аденокарциномы молочной железы человека MCF-7, которые культивировали в среде RPMI-1640 (для клеток MCF-7 – среда DMEM), содержащей 10 % FBS, 1 % пенициллина, 1 % стрептомицина, 1 % глутамина, в CO₂-инкубаторе при 37 °C и 8 % CO₂, пересевали каждые 3–4 дня в зависимости от плотности клеточного слоя. С исследуемыми соединениями в концентрации 20 мкМ клетки инкубировали в течение 24 часов.

РНК выделяли с использованием TRIzol Reagent (Thermo Fisher Scientific, США) согласно инструкции. Для получения кДНК проводили обратную транскрипцию с использованием набора реагентов iScript cDNA Synthesis Kit (Bio-Rad Laboratories, США) согласно инструкции. Методом TaqMan ПЦР [15] в режиме реального времени на амплификаторе CFX96 (Bio-Rad Laboratories) изучали изменение экспрессии мРНК генов *Nrf2*, *Nqo1*, *LC3b* и *Sqstm1* (таблица), кодирующих соответственно Nrf2, NAD(P)H:хиноноксидоредуктазу-1, LC3B, p62/секвестосому-1. Реакцию амплификации проводили в следующих условиях: реакционная смесь ПЦР объ-

Таблица. Подобранные пары прямых (F) и обратных праймеров (R), TaqMan-зондов (Pr)

Table. List of forward (F), reverse (R) primer sequences and TaqMan probes (Pr)

Ген	GenBank ассоциированный номер	Последовательность праймера
<i>Gapdh</i>	NM_001289726.1 NM_008084.3	F: 5'-AACTTTGGCATTGTGGAAGGGCTC-3' R: 5'-ACCAGTGGATGCAGGGATGATGTT-3' Pr: Hex-5'-ATGACCACAGTCCATGCCATCACTGCCA-3'-Q
<i>Nqo1</i>	NM_008706.5	F: 5'-CGAATCTGACCTCTATGCTATG-3' R: 5'-TAGAGATGACTCGGAAGGATAC-3' Pr: Fam-5'-TGAGCTGAAGGACTCGAAGAACT-3'-Q
<i>Nrf2</i>	NM_010902.4	F: 5'-TGATGGACTTGGAGTTGC-3' R: 5'-TCAAACACTTCTCGACTTACT-3' Pr: Fam-5'-TACAGTCCCAGCAGGACATGGATT-3'-Q
<i>LC3b</i>	NM_026160.4	F: 5'-GAAGTGACGAGAGTGAGAGAGA-3' R: 5'-CAACCATTTGGCTTTGTTGGAG-3' Pr: Fam-5'-CGCAGGAGACATTCGGGACAGCAA-3'-Q
<i>Sqstm1</i>	NM_011018.3 NM_001290769.1	F: 5'-AGCTGTTTCGTCCGTACCTAGAC-3' R: 5'-TCCTCCTTGCCCAGAAGATAGG-3' Pr: Fam-5'-TCACCGTGAACGACGCCATAACCGC-3'-Q

емом 20 мкл содержала буфер для ПЦР, 2,5 mM MgCl₂, 0,2 mM dNTP's, 1,25 е. а. Taq-полимеразы. Амплификацию выполняли согласно следующей программе: 3 мин при 95 °C начальной денатурации, далее 40 циклов: 10 с при 95 °C для денатурации, 20 с при 60 °C для гибридизации праймеров, съем флуоресцентного сигнала, 20 с при 72 °C для элонгации. Уровень экспрессии мРНК генов рассчитывали согласно методу 2^{-ΔΔCT} и нормировали относительно референсного гена *Gapdh*. Подобранные пары праймеров и TaqMan-зондов приведены в таблице.

Статистическую обработку результатов исследования проводили, вычисляя среднее арифметическое значение (*M*), ошибку среднего арифметического значения (*m*), и представляли в виде *M* ± *m*. Отличие от контрольной группы (без добавления тестируемого соединения) оценивали с помощью дисперсионного анализа с использованием критерия Даннета, достоверными считали результаты при *p* < 0,05. Связь между различными признаками в исследуемой выборке определяли с помощью корреляционного анализа величиной коэффициента корреляции Пирсона (*r*).

Результаты и их обсуждение

Все соединения, за исключением препарата сравнения tBHQ, эффективно (в 1,6–2,1 раза) увеличивали экспрессию мРНК NQO1 (Nrf2-подконтрольный фермент) в клетках LLC (рис. 1, а). Интересно, что, напротив, экспрессия мРНК самого транскрипционного фактора Nrf2

значимо снижалась (под действием TC-13, CC-13, C-13 и TC-17) или не изменялась (TC-12), в то время как tBHQ увеличивал ее в 2,3 раза (рис. 1, б). Необходимо отметить, что активность системы Keap1/Nrf2/ARE регулируется главным образом на посттранскрипционном уровне, один из ключевых моментов ее индукции – внутриклеточное перераспределение Nrf2 (транспорт в ядро) с последующей активацией подконтрольных генов [1, 3]; вполне вероятно, что наблюдаемое нами снижение экспрессии мРНК Nrf2 отражает феномен обратной петли.

Инкубирование клеток LLC с тестируемыми соединениями не влияло на экспрессию в них мРНК LC3B (структурный белок аутофагосомной мембраны) (рис. 1, в), содержание мРНК p62 статистически значимо увеличивали TC-13 и TC-12 (рис. 1, г). Многофункциональный каркасный белок p62, известный также как секвестосома-1 (SQSTM1), содержит в своей структуре участки для связывания со многими белками: убиквитином, Keap1, LC3 и др. Сегодня показано участие p62 в качестве рецептора при многих формах селективной аутофагии: агрефагии, митофагии, пексофагии, ксенофагии. Его взаимодействие с Keap1 носит конкурентный характер, нарушает взаимосвязь с Nrf2 и тем самым активирует транскрипционный фактор, а образование комплекса «p62–Keap1» приводит к деградации последнего посредством аутофагии [7, 16]. Можно предположить, что обнаруженный эффект либо свидетельствует о способности

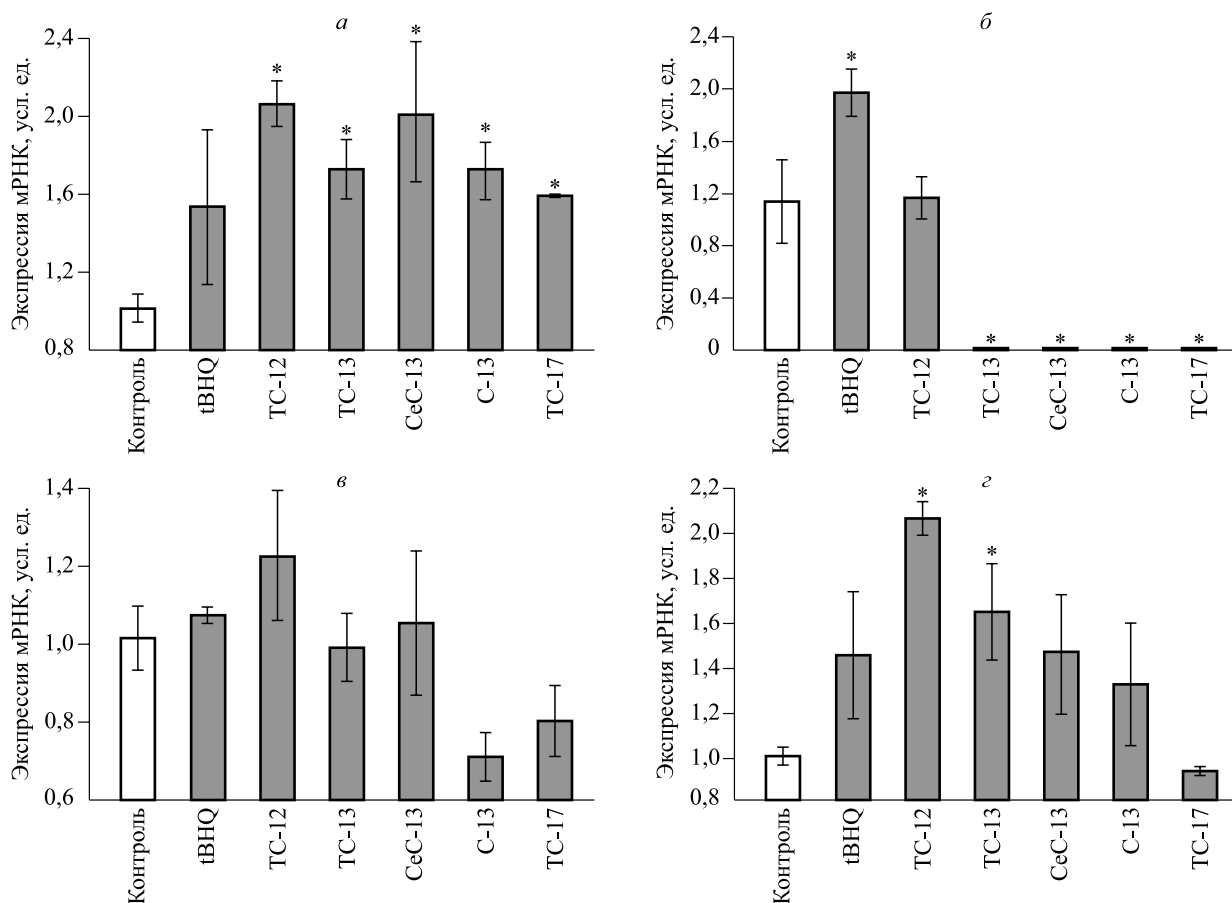


Рис. 1. Влияние тестируемых соединений на изменение экспрессии мРНК генов *Nqo1* (а), *Nrf2* (б), *LC3b* (в) и *Sqstm1* (г) в клетках LLC. Здесь и на рис. 2 * – отличие от величины соответствующего контроля статистически значимо при $p < 0,05$

Fig. 1. Effect of tested compounds on *Nqo1* (а), *Nrf2* (б), *LC3b* (в), and *Sqstm1* (г) gene mRNA expression in LLC cells (24 h incubation). Here and in Fig. 2 * - the difference from the value of the corresponding control is statistically significant at $p < 0.05$

TC-13 и TC-12 как индуцировать систему Keap1/Nrf2/ARE, так и стимулировать аутофагию, либо отражает опосредованное соединениями взаимно усиливающую перекрестную активацию данных процессов. Так, корреляционный анализ показал наличие значимой связи между экспрессией мРНК генов *Nqo1* и *Sqstm1* ($r = 0,7725$, $p = 0,00001$).

При инкубировании в аналогичных условиях с клетками MCF-7 соединения TC-12, TC-13 и C-13 значимо увеличивали экспрессию в них мРНК NQO1 (рис. 2, а); можно заключить, что для индукции Nrf2-подконтрольных генов в клетках этой линии важно наличие несимметричного экранирования гидроксильной группы, в то время как строение *пара*-заместителя не столь существенно сказывается на эффекте. При этом отсутствие стимулирующего эффекта у вещества CeC-13 можно объяснить его высокой

токсичностью. Более того, по способности индуцировать экспрессию гена *Nqo1* соединения располагаются в ряд (средние значения: C-13 > TC-12 ≈ TC-13 > TC-17 > CeC-13), в точности повторяющий ряд ингибирования ими пролиферации клеток MCF-7 (IC_{50}), но в обратном порядке (CeC-13 > TC-17 > TC-12 > TC-13 >> C-13) [12].

Напротив, экспрессию мРНК гена самого транскрипционного фактора повышал только CeC-13 (рис. 2, б). Вероятно, селенсодержащий аналог оказывает настолько сильное возмущающее воздействие на внутриклеточный гомеостаз (возможно, в том числе индуцируя окислительный стресс), что система детоксикации Keap1/Nrf2/ARE вначале мобилизуется [13], а впоследствии разбалансируется: экспрессия Nrf2 повышается, но мРНК зависимых от него генов либо не синтезируется в достаточном количестве, либо нестабильна.

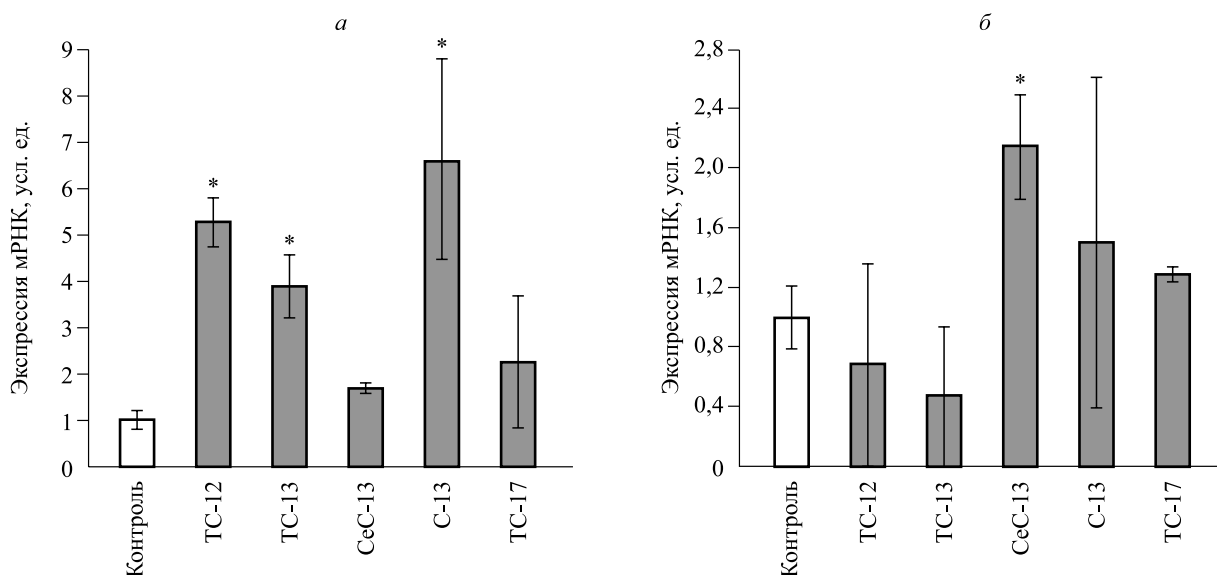


Рис. 2. Влияние тестируемых соединений на изменение экспрессии мРНК генов *Nqo1* (а) и *Nrf2* (б) в клетках MCF-7

Fig. 2. Effect of tested compounds on *Nqo1* (a) and *Nrf2* (б) gene mRNA expression in MCF-7 cells

Закключение

Структурно-родственные синтетические монофенолы эффективно индуцируют систему Keap1/Nrf2/ARE в клетках LLC и MCF-7, увеличивая экспрессию Nrf2-подконтрольного гена *Nqo1*, и неоднозначно влияют на транскрипцию генов белков, опосредующих аутофагию: содержание мРНК белка LC3В не изменяется, в то время как экспрессия мРНК белка p62, влияющего на работу обеих систем (процессов), увеличивается лишь по действию орто-монозамещенного фенола с атомом «активной» серы в пара-пропильном заместителе ТС-13 и его структурного аналога ТС-12 с укороченным на одно метиленовое звено пара-заместителем.

Список литературы / References

1. Зенков Н.К., Кожин П.М., Чечушков А.В., Мартинович Г.Г., Кандалинцева Н.В., Меньщикова Е.Б. Лабиринты регуляции Nrf2. *Биохимия*. 2017; 82 (5): 757–767.

Zenkov N.K., Kozhin P.M., Chechushkov A.V., Martinovich G.G., Kandalintseva N.V., Menshchikova E.B. Mazes of Nrf2 regulation. *Biokhimiya = Biochemistry (Biochemistry (Mosc.))*. 2017; 82 (5): 556–564. doi 10.1134/S0006297917050030

2. Зенков Н.К., Кожин П.М., Вчерашняя А.В., Мартинович Г.Г., Кандалинцева Н.В., Меньщикова Е.Б. Особенности редокс-регуляции в опухолевых клетках. *Сиб. науч. мед. ж.* 2019; 39 (2): 11–26. doi: 10.15372/SSMJ20190202

Zenkov N.K., Kozhin P.M., Vcherashnyaya A.V., Martinovich G.G., Kandalintseva N.V., Menshchikova E.B. Features of redox regulation in tumor cells. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2019; 39 (2): 11–26. [In Russian]. <https://doi.org/10.15372/SSMJ20190202>

3. Kang J.S., Nam L.B., Yoo O.K., Keum Y.S. Molecular mechanisms and systemic targeting of NRF2 dysregulation in cancer. *Biochem. Pharmacol.* 2020; 177: 114002. doi: 10.1016/j.bcp.2020.114002

4. Taguchi K., Yamamoto M. The KEAP1-NRF2 system as a molecular target of cancer treatment. *Cancers*. 2020; 13 (1): 46. doi: 10.3390/cancers13010046

5. Hayashi M., Kuga A., Suzuki M., Panda H., Kitamura H., Motohashi H., Yamamoto M. Microenvironmental activation of Nrf2 restricts the progression of Nrf2-activated malignant tumors. *Cancer Res.* 2020; 80 (16): 3331–3344. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-19-2888

6. Verma A.K., Bharti P.S., Rafat S., Bhatt D., Goyal Y., Pandey K.K., Ranjan S., Almatroodi S.A., Alsahli M.A., Rahmani A.H., Almatroudi A., Dev K. Autophagy paradox of cancer: Role, regulation, and duality. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2021; 2021: 8832541. doi: 10.1155/2021/8832541

7. Emanuele S., Lauricella M., D'Anneo A., Carlisi D., de Blasio A., di Liberto D., Giuliano M. p62: friend or foe? Evidences for oncoJanus and neuroJanus roles. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21 (14): 5029. doi: 10.3390/ijms21145029

8. Marinković M., Šprung M., Buljubašić M., Novak I. Autophagy modulation in cancer: Current knowledge on action and therapy. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2018; 2018: 1–18. doi: 10.1155/2018/8023821

9. Ichimura Y., Komatsu M. Activation of p62/SQSTM1–Keap1–Nuclear Factor Erythroid 2-Related

Factor 2 pathway in cancer. *Front. Oncol.* 2018; 8: 210. doi: 10.3389/fonc.2018.00210

10. Takamura A., Komatsu M., Hara T., Sakamoto A., Kishi C., Waguri S., Eishi Y., Hino O., Tanaka K., Mizushima N. Autophagy-deficient mice develop multiple liver tumors. *Genes Dev.* 2011; 25 (8): 795–800. doi: 10.1101/gad.2016211

11. Desantis V., Saltarella I., Lamanuzzi A., Mariglio M.A., Racanelli V., Vacca A., Frassanito M.A. Autophagy: A new mechanism of pro-survival and drug resistance in multiple myeloma. *Transl. Oncol.* 2018; 11 (6): 1350–1357. doi: 10.1016/j.tranon.2018.08.014

12. Гайнутдинов П.И., Кожин П.М., Чечушков А.В., Мартинович Г.Г., Хольшин С.В., Кандалинцева Н.В., Зенков Н.К., Меньщикова Е.Б. Обратная зависимость между антиоксидантной активностью синтетических монофенолов структурно взаимосвязанного ряда и их токсичностью в отношении опухолевых клеток. *Сиб. науч. мед. ж.* 2018; 38 (1): 22–31. doi: 10.15372/SSMJ20180104

Gaynutdinov P.I., Kozhin P.M., Chechushkov A.V., Martinovich G.G., Kholshin S.V., Kandalintseva N.V., Zenkov N.K., Menshchikova E.B. Inverse relationship between the antioxidant activity of structurally related synthetic monophenols and their toxicity in tumor cells. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2018; 38 (1): 22–31. [In Russian]. <https://doi.org/10.15372/SSMJ20180104>

13. Menshchikova E.B., Chechushkov A.V., Kozhin P.M., Kholshin S.V., Kandalintseva N.V., Mar-

tinovich G.G., Zenkov N.K. Activation of autophagy and Nrf2 signaling in human breast adenocarcinoma MCF-7 cells by novel monophenolic antioxidants. *Cell Tissue Biol.* 2019; 13 (2): 85–92. doi: 10.1134/S1990519X1902007X

14. Олейник А.С., Куприна Т.С., Певнева Н.Ю., Марков А.Ф., Кандалинцева Н.В., Просенко А.Е., Григорьев И.А. Синтез и антиоксидантные свойства S-[3-(гидроксиарил)пропил]тиосульфатов и [3-(гидроксиарил)пропан]-1-сульфонатов натрия. *Изв. АН. Сер. хим.* 2007; (6): 1094–1101.

Oleinik A.S., Kuprina T.S., Pevneva N.Yu., Markov A.F., Kandalintseva N.V., Prosenko A.E., Grigoriev I.A. Synthesis and antioxidant properties of sodium S-[3-(hydroxyaryl) propyl] thiosulfates and [3-(hydroxyaryl) propane]-1-sulfonates. *Izvestiya Akademii nauk. Seriya khimicheskaya = Bulletin of the Russian Academy of Sciences, Division of Chemical Science.* 2007; (6): 1094–1101. [In Russian].

15. Heid C.A., Stevens J., Livak K.J., Williams P.M. Real time quantitative PCR. *Genome Res.* 1996; 6 (10): 986–994. doi: 10.1101/gr.6.10.986

16. Gureev A.P., Sadovnikova I.S., Starkov N.N., Starkov A.A., Popov V.N. p62-Nrf2-p62 mitophagy regulatory loop as a target for preventive therapy of neurodegenerative diseases. *Brain Sci.* 2020; 10 (11): 847. doi: 10.3390/brainsci10110847

Сведения об авторах:

Семён Евгеньевич Храпов, e-mail: semen.hrapov@gmail.com

Пётр Михайлович Кожин, к.м.н., ORCID: 0000-0002-9989-9778, e-mail: kozhinpm@gmail.com

Марина Валерьевна Храпова, к.б.н., ORCID: 0000-0003-3397-8067, e-mail: khrapova@centercem.ru

Анастасия Евгеньевна Серых, e-mail: rasiel1996@yandex.ru

Лидия Петровна Ромаха, e-mail: lpromakh@centercem.ru

Владислав Сергеевич Павлов, e-mail: vspavlov@centercem.ru

Антон Владимирович Чечушков, к.м.н., ORCID: 0000-0002-0238-4533, e-mail: achechushkov@gmail.com

Сергей Викторович Хольшин, e-mail: s.kholshin@gmail.com

Николай Константинович Зенков, д.б.н., ORCID: 0000-0003-1476-4098, e-mail: zenkovnk@mail.ru

Елена Брониславовна Меньщикова, д.м.н., ORCID: 0000-0003-2367-0114, e-mail: lemen@centercem.ru

Information about the authors:

Semen E. Khrapov, e-mail: semen.hrapov@gmail.com

Peter M. Kozhin, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-9989-9778, e-mail: kozhinpm@gmail.com

Marina V. Khrapova, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0003-3397-8067, e-mail: khrapova@centercem.ru

Anastasia E. Serykh, e-mail: rasiel1996@yandex.ru

Lidia P. Romakh, e-mail: lpromakh@centercem.ru

Vladislav S. Pavlov, e-mail: vspavlov@centercem.ru

Anton V. Chechushkov, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-0238-4533, e-mail: achechushkov@gmail.com

Sergey V. Kholshin, e-mail: s.kholshin@gmail.com

Nikolay K. Zenkov, doctor of biological sciences, ORCID: 0000-0003-1476-4098, e-mail: zenkovnk@mail.ru

Elena B. Menshchikova, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0003-2367-0114, e-mail: lemen@centercem.ru

Поступила в редакцию 07.09.2020

После доработки 15.03.2021

Принята к публикации 24.03.2021

Received 07.09.2020

Revision received 15.03.2021

Accepted 24.03.2021