

Для цитирования: *Носарева О.Л., Орлов Д.С., Шахристова Е.В., Степовая Е.А., Садыкова А.А.* Роль N-ацетилцистеина в регуляции апоптоза опухолевых клеток линии P19 при гипоксии. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(3): 102–108. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-102-108.

For citation: *Nosareva O.L., Orlov D.S., Shakhristova E.V., Stepovaya E.A., Sadykova A.A.* Effect of N-acetylcysteine on apoptosis of P19 cancer cells during hypoxia. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(3): 102–108. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-102-108.

## РОЛЬ N-АЦЕТИЛЦИСТЕИНА В РЕГУЛЯЦИИ АПОПТОЗА ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ЛИНИИ P19 ПРИ ГИПОКСИИ

**О.Л. Носарева, Д.С. Орлов, Е.В. Шахристова, Е.А. Степовая,  
А.А. Садыкова**

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России,  
г. Томск, Россия  
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2. E-mail: olnosareva@yandex.ru

### Аннотация

**Введение.** Гипоксия при опухолевом росте способствует формированию дисфункции митохондрий и выступает дополнительным фактором, усугубляющим окислительный стресс в иммортализованной клетке. **Цель исследования** – изучение молекулярных механизмов воздействия N-ацетилцистеина на редокс-регуляцию апоптоза опухолевых клеток при гипоксии. **Материал и методы.** Материалом для исследования служили культивированные в условиях гипоксии опухолевые клетки линии P19 (тератокарцинома мыши). Редокс-статус модулировали N-ацетилцистеином (конечная концентрация 5 мМ). Методом проточной цитофлуориметрии определяли содержание активных форм кислорода, концентрацию ионов кальция, трансмембранный потенциал митохондрий, количество CD95-, CD120- и аннексин V-положительных клеток. Концентрацию компонентов системы глутатиона, SH-групп протеинов и карбонильных производных белков измеряли методом спектрофотометрии. **Результаты.** Применение N-ацетилцистеина в условиях гипоксии сопровождалось значимым увеличением концентрации общего глутатиона и SH-групп белков, снижением содержания ионов  $Ca^{2+}$ , белковосвязанного глутатиона и карбонильных производных протеинов, а также продукции активных форм кислорода и более адекватным функционированием митохондрий клеток линии P19. N-ацетилцистеин способствовал формированию дополнительной устойчивости опухолевых клеток линии P19 к апоптозу в условиях гипоксии. **Заключение.** В условиях гипоксии изменение состояния системы глутатиона влияет на изменение метаболизма опухолевой клетки в целом и способствует формированию дополнительных механизмов ускользания от клеточной гибели.

**Ключевые слова:** опухолевый рост, апоптоз, окислительный стресс, гипоксия, система глутатиона, N-ацетилцистеин.

## EFFECT OF N-ACETYLCYSTEINE ON APOPTOSIS OF P19 CANCER CELLS DURING HYPOXIA

**O.L. Nosareva, D.S. Orlov, E.V. Shakhristova, E.A. Stepovaya, A.A. Sadykova**

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia  
2, Moskovsky Trakt Street, 634050-Tomsk, Russia. E-mail: olnosareva@yandex.ru

### Abstract

**Introduction.** Hypoxia in tumor growth contributes to mitochondrial dysfunction and exacerbates oxidative stress in the immortalized cell. The objective of the study was to investigate the molecular mechanisms of the effects of N-acetylcysteine on redox regulation of tumor cell apoptosis under hypoxia. **Material and Methods.** P19 cells (mouse teratocarcinoma) cultured under hypoxia used as the material for the study. The redox status was modulated with N-acetylcysteine in the final concentration of 5 mM. The level of reactive

oxygen species, concentration of calcium ions, transmembrane potential and the number of CD95-, CD120- and Annexin V-positive cells were determined by flow cytometry. The concentration of glutathione system components as well as the levels of protein SH groups and protein carbonyl derivatives were measured by spectrophotometry. **Results.** The use of N-acetylcysteine under hypoxic conditions was accompanied by the increased total glutathione concentration and protein SH groups levels, decreased levels of  $Ca^{2+}$  ions, protein-bound glutathione and protein carbonyl derivatives, as well as the production of reactive oxygen species and more appropriate functioning of P19 cells mitochondria. N-acetylcysteine contributed to the development of additional resistance of P19 cells to apoptosis under hypoxia. **Conclusion.** The alteration in the state of the glutathione system under hypoxia influences the changes in tumor cell metabolism on the whole and promotes formation of additional mechanisms to escape apoptosis.

**Key words:** tumor growth, apoptosis, oxidative stress, hypoxia, glutathione system, N-acetylcystein.

### Введение

В связи с высокой частотой онкологических заболеваний вызывают интерес исследования по изучению молекулярных механизмов опухолевого роста и выживания малигнизированных клеток. Значительный вклад в регуляцию процесса апоптоза вносят митохондрии, деятельность которых сопряжена с генерацией активных форм кислорода (АФК) при изменении напряжения кислорода в клетке [1–3]. Активные формы кислорода способствуют окислительной модификации белков, участвующих в реализации и регуляции апоптоза [4–7]. Поэтому особого внимания заслуживает изучение триггерных механизмов клеточной гибели опухолевых клеток в условиях гипоксии. В этом случае опухолевая клетка приобретает дополнительные качества, препятствующие реализации апоптотической гибели и способствующие невосприимчивости к химиотерапии [8].

На наш взгляд, актуальным является участие компонентов системы глутатиона в редокс-модуляции внутриклеточного сигналинга и процесса клеточной гибели, что может быть опосредовано формированием дисульфидных связей в молекулах белков, которые способствуют изменению их функциональной активности [4, 9, 10]. В процесс обратимой и необратимой ковалентной модификации могут быть вовлечены ключевые белки-регуляторы клеточного цикла, факторы транскрипции, ион-транспортирующие системы, способствующие генетической нестабильности, нарушению дифференцировки и метаболизма опухолевой клетки [7, 11–13].

**Целью исследования** явилось установление молекулярных механизмов воздействия N-ацетилцистеина на редокс-регуляцию апоптоза опухолевых клеток при гипоксии.

### Материал и методы

Материалом для исследования были выбраны опухолевые клетки линии P19 (тератокарцинома мыши СЗН/Не), полученные из Российской коллекции клеточных культур Института цитологии РАН (г. Санкт-Петербург, Россия). Культивирование опухолевых клеток проводили монослойным способом в  $CO_2$ -инкубаторе («Sanyo», Япония) при  $37^\circ C$  в атмосфере 5 %  $CO_2$  в полной питательной

среде  $\alpha$ -МЕМ («БиолоТ», Россия), содержащей 10 % инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки («БиолоТ», Россия), L-глутамин (0,3 мг/мл) («БиолоТ», Россия) и гентамицин (100 мкг/мл) («Микроген», Россия). Культуру пересаживали каждые 2 дня и поддерживали в логарифмической фазе роста. Жизнеспособность клеток оценивали с помощью 0,5 % раствора трипанового синего («Serva», США). Для проведения эксперимента использовали культуру клеток, имеющую не более 5 % погибших клеток.

С целью дополнительной продукции активных форм кислорода опухолевыми клетками проводили моделирование условий гипоксии в культуре опухолевых клеток линии P19 в специальной инкубационной камере «Hypoxia Incubator Chamber» («STEMCELL», Канада), наполняемой газовой смесью, состоящей из 5 %  $O_2$ , 5 %  $CO_2$  и 90 %  $N_2$ . Контроль за формированием гипоксии осуществлялся за счет измерения концентрации растворенного кислорода в среде культивирования оксиметром «Dissolved Oxygen Meter» («HANNA HI 9146», Италия).

Управление редокс-статусом опухолевых клеток осуществляли с помощью добавления в культуральную среду предшественника синтеза глутатиона N-ацетилцистеина (НАЦ) («Sigma-Aldrich», США) в концентрации 5 мМ. Применение N-ацетилцистеина опосредовало поступление одного из субстратов для синтеза глутатиона, так как при действии эндогенных эстераз высвобождается L-цистеин [14].

После инкубации опухолевые клетки отмывали от питательной среды и лизировали путем ресуспендирования в фосфатно-солевом буфере (pH=7,4) с добавлением 1 % тритона X-100 («Sigma-Aldrich», США) и охлаждения на льду с сохранением стандартной концентрации клеток для определения концентрации карбонильных производных белков. Для определения содержания общего, восстановленного, окисленного, белково-связанного глутатиона и SH-групп белков лизат клеток депротенизировали с помощью 5 % раствора сульфосалициловой кислоты.

Концентрацию общего, окисленного (GSSG) и восстановленного (GSH) глутатиона определяли методом, предложенным М.Е. Anderson в модифи-

кации I. Rahman et al. [15]. Рассчитывали величину отношения GSH/GSSG как показатель изменения редокс-статуса клетки. Содержание SH-групп белков, а также белковосвязанного глутатиона после предварительного его высвобождения из связи с белками с помощью 1 % раствора боргидрида натрия учитывали по реакции с 5,5-дитио-бис(2-нитробензойной) кислотой [16]. Результаты представляли в нмоль/мг белка.

Концентрацию карбонильных производных белков определяли по их реакции взаимодействия с 2,4-динитрофенилгидразином, продукт которой имеет максимум поглощения при длине волны 363 нм [17]. Результаты выражали в нмоль/мг белка.

Содержание белка в клетках определяли по методу Бредфорда, основанному на взаимодействии аминокислотных остатков лизина и аргинина с красителем Кумасси голубым G-250 [18]. Учет экстинкции результатов проводили с помощью спектрофотометра СФ-2000 («ОКБ-Спектр», Россия).

Оценку апоптотически измененных клеток проводили с помощью проточной цитометрии с использованием аннексина-V-FITC и пропидий йодида (PI) согласно инструкции фирмы-производителя («eBioscience», США). Подсчет количества аннексин-положительных клеток осуществляли к общему числу изучаемых клеток и выражали в процентах.

Количество CD95- и CD120-положительных клеток определяли с помощью набора моноклональных антител к соответствующим антигенам согласно протоколу производителя («R&D Systems», США). Результат выражали в условных единицах (у.е.).

Оценку митохондриального мембранного потенциала ( $\Delta\Psi_m$ ) клеток проводили с помощью набора Flow Cytometry Mitochondrial Membrane Potential Detection Kit («BD», США) по снижению спектрального свечения, используя 5,5',6,6'-тетрахлоро-1,1',3,3'-тетраэтилбензимидазолкарбоцианина иодид, который при деполяризации мембраны митохондрий не способен проникать внутрь органелл и образовывать флуоресцирующие агрегаты. Количество клеток со сниженной флуоресценцией выражали в процентах.

Определение концентрации ионов кальция в цитоплазме клеток проводили с помощью метода, основанного на их связывании липофильным зондом Fluo 3 AM с максимумом флуоресценции при 526 нм («Sigma-Aldrich», США) [19]. Результаты выражали в условных единицах (у.е.), отражающих уровень свечения зонда на клетку.

Внутриклеточную концентрацию АФК оценивали с помощью 2,7-дихлорфлуоресцеин-3,6-диацетата («Sigma-Aldrich», США) [20]. Результаты выражали в у.е.

Детекцию результатов проточной цитометрии проводили с помощью прибора FACSCanto II («BD», США) с использованием программного обеспечения FACSDiva Version 6.1.3.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программы «SPSS 17.0». Проверка нормальности распределения количественных показателей осуществлялась с использованием критерия Шапиро–Уилка. Достоверность различий оценивалась с помощью непараметрических критериев Краскала–Уолиса и Манна–Уитни. Данные представляли в виде медианы (Me), верхнего и нижнего квартилей ( $Q_1, Q_3$ ). Статистически значимыми различия считали при  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

Дизрегуляция апоптоза на фоне снижения концентрации кислорода сопряжена с изменением редокс-статуса в малигнизированных клетках [21–23]. Одной из ведущих антиоксидантных систем инактивирующих АФК является система глутатиона. В проведенной работе был использован NAC в конечной концентрации 5 мМ в качестве предшественника синтеза глутатиона с целью изменения редокс-статуса опухолевых клеток P19 и оценки их выживаемости.

В условиях гипоксии при дополнительном внесении NAC в среду культивирования опухолевых клеток линии P19 было получено значимое снижение концентрации общего глутатиона в 1,2 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с результатами, зарегистрированными в клетках при гипоксии (таблица). Это было опосредовано за счет изменения содержания восстановленного и окисленного глутатиона (таблица). Важно отметить, что в условиях гипоксии при дополнительном внесении в среду культивирования NAC клетки линии P19 имели сопоставимое значение величины соотношения GSH к GSSG по сравнению с клетками, культивированными при гипоксии (таблица). Анализ содержания компонентов системы глутатиона в клетках, культивированных в условиях гипоксии при добавлении в среду культивирования NAC, позволяет предположить их участие в значимом увеличении содержания SH-групп белков в 1,3 раза ( $p < 0,05$ ), снижении концентрации белковосвязанного глутатиона в 2,7 раза ( $p < 0,05$ ) и карбонильных производных белков в 3,3 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с гипоксией (таблица). Это свидетельствовало об участии компонентов системы глутатиона в условиях гипоксии и редокс-модулирования в глутатионилировании белков, протекции протеинов от карбонильных сшивок и изменении метаболизма опухолевой клетки.

Опухолевые клетки линии P19 при гипоксии и дополнительном добавлении в среду культивирования NAC характеризовались значимым снижением внутриклеточного содержания АФК и ионов  $Ca^{2+}$  в 1,1 раза ( $p < 0,05$ ) и карбонильных производных белков в 3,3 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с результатами, полученными в клетках в условиях гипоксии (таблица). При этом зафиксировано значимо низкое число клеток со сниженным митохондриальным потенциалом в 3,4 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с ги-

Таблица/Table

**Влияние N-ацетилцистеина на реализацию апоптоза, показатели системы глутатиона, содержание активных форм кислорода и карбонильных производных белков в опухолевых клетках линии P19 в условиях гипоксии, Me (Q<sub>1</sub>–Q<sub>3</sub>)**

**The effect of N-acetylcysteine on implementation of apoptosis, parameters of the glutathione system, level of reactive oxygen species and protein carbonyl derivatives in P19 cells under hypoxia, Me (Q<sub>1</sub>–Q<sub>3</sub>)**

Показатели/ Parameters	Условия культивирования опухолевых клеток линии P19/ Conditions of culturing P19 cells	
	Гипоксия/Нуроксия Hypoxia/Hypoxia	Гипоксия + NAC/ Hypoxia + NAC
Аннексин-V-FITC <sup>+</sup> , %/ Annexin-V-FITC <sup>+</sup> , %	10,75 (4,50–10,90)	7,65 (7,00–8,60)
CD95, у.е./CD95, u.	1,0 (0,9–1,1)	1,1 (1,0–1,2)
CD120, у.е./CD120, u.	1,4 (1,3–1,5)	0,9 (0,8–1,0)
Клетки со сниженным ΔΨ <sub>m</sub> , %/ Cells with reduced ΔΨ <sub>m</sub> , %	10,4 (10,4–10,6)	3,1 (3,0–3,2)*
Содержание Ca <sup>2+</sup> в клетке, у.е./ Intracellular concentration of Ca <sup>2+</sup> , u.	10,24 (10,10–10,36)	9,74 (9,72–9,75)*
Продукция АФК, у.е./ Production of ROS, u.	19,07 (18,96–19,29)	17,94 (17,88–18,06)*
Карбонильные производные белков, нмоль/мг белка/ Protein carbonyl derivatives, nmol/mg protein	10,17 (8,92–10,39)	3,08 (2,93–4,21)*
Общий глутатион, нмоль/мг белка/ Protein carbonyl derivatives, nmol/mg protein	4,86 (4,74–5,03)	5,87 (5,63–6,08)*
GSH, нмоль/мг белка/ GSH, nmol/mg protein	4,47 (4,40–4,58)	5,27 (3,76–5,74)
GSSG, нмоль/мг белка/ GSSG, nmol/mg protein	0,43 (0,39–0,45)	0,53 (0,36–1,79)
GSH/GSSG	10,19 (9,88–11,35)	12,47 (2,10–14,73)
Белковосвязанный глутатион, нмоль/мг белка/ Proteinbound glutathione, nmol/mg protein	2,08 (1,95–2,19)	1,76 (1,59–1,91)*
SH-группы белков, нмоль/мг белка/ Protein SH groups, nmol/mg protein	8,76 (7,83–10,55)	11,60 (11,58–12,62)*

Примечание: АФК – активные формы кислорода, GSH – восстановленный глутатион, GSSG – окисленный глутатион, NAC – N-ацетилцистеин; \* – статистически значимые различия (p<0,05) между группами P19 гипоксия и P19 гипоксия + NAC.

Note: ROS – reactive oxygen species, GSH – reduced glutathione, GSSG – oxidized glutathione, NAC – N-acetylcysteine; \* – statistically significant differences (p<0.05) between the P19 Hypoxia and P19 Hypoxia + NAC groups.

поксией (таблица). Вероятнее всего, в этом случае редокс-модулятор оказывал влияние на внутриклеточный метаболизм функционирования митохондрий и изменение содержания ионов Ca<sup>2+</sup>.

Причиной чрезмерной генерации АФК в условиях гипоксии служит утечка электронов из дыхательной цепи митохондрий, так как отсутствие достаточного уровня кислорода способствует снижению концентрации конечного акцептора электронов и ингибированию цитохромоксидазы. Поэтому нарушение функционирования митохондрий рассматривается основной причиной формирования окислительного стресса в клетке, а также может способствовать запуску апоптоза по митохондриальному пути [22, 24]. Основными АФК, которые образуются в результате этого процесса, являются супероксидный анион-радикал

и перекись водорода [22, 25]. Ранее при проведении исследования влияния условий гипоксии на метаболизм опухолевых клеток линии P19 нами было показано формирование окислительного стресса, изменение состояния системы глутатиона и активация реализации апоптоза по сравнению с опухолевыми клетками, культивируемыми при нормальном напряжении кислорода [26].

Учитывая все вышеизложенное и полученные нами в условиях гипоксии при дополнительном внесении NAC в среду культивирования опухолевых клеток линии P19 сопоставимые результаты числа аннексин-V-, CD95- и CD120-положительных клеток по сравнению с гипоксией (таблица), можно сделать заключение о нарушении регуляции запуска рецепторного и митохондриального путей апоптоза в опухолевых клетках в этих условиях.

Результаты проведенного исследования позволяют утверждать о значимой роли системы глутатиона в обеспечении функционирования опухолевых клеток, в том числе митохондрий, при сниженном напряжении кислорода. Примененный нами N-ацетилцистеин способствовал формированию дополнительной устойчивости опухолевых клеток линии P19 к триггерным механизмам запуска апоптоза в условиях гипоксии.

### Заключение

В условиях гипоксии изменение состояния системы глутатиона, окислительной модификации белков, влияет на изменение метаболизма опухолевой клетки в целом и способствует формированию дополнительных механизмов

ускользания от клеточной гибели. Выполненное исследование посвящено изучению редокс-зависимого таргетного управления реализацией и регуляции апоптотической гибели опухолевых клеток линией P19 в условиях гипоксии путем глутатионилирования и карбонилирования белков, что представляет практическую значимость для онкологии. С учетом центральной роли митохондрий в окислительно-восстановительном гомеостазе и запуске внутреннего пути апоптоза данное исследование подтверждает необходимость изучения механизмов развития устойчивости опухолевых клеток к противоопухолевым препаратам, механизм действия которых основан на изменении редокс-потенциала системы глутатиона.

### ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. *Sinha K., Das J., Pal P.B., Sil P.C.* Oxidative stress: the mitochondria-dependent and mitochondria-independent pathways of apoptosis. *Arch Toxicol.* 2013 Jul; 87(7): 1157–80. doi: 10.1007/s00204-013-1034-4.
2. *Chen Y., Zhang H., Zhou H.J., Ji W., Min W.* Mitochondrial Redox Signaling and Tumor Progression. *Cancers (Basel).* 2016 Mar 25; 8(4): pii: E40. doi: 10.3390/cancers8040040.
3. *Redza-Dutordoir M., Averill-Bates D.A.* Activation of apoptosis signalling pathways by reactive oxygen species. *Biochim Biophys Acta.* 2016 Dec; 1863(12): 2977–2992. doi: 10.1016/j.bbamcr.2016.09.012.
4. *Mailloux R.J., Jin X., Willmore W.G.* Redox regulation of mitochondrial function with emphasis on cysteine oxidation reactions. *Redox Biol.* 2013 Dec 19; 2: 123–39. doi: 10.1016/j.redox.2013.12.011.
5. *Степовая Е.А., Рязанцева Н.В., Носарева О.Л., Закирова Е.В., Наумова А.И., Веснина О.Н., Орлов Д.С., Шахристова Е.В., Иванов В.В., Новицкий В.В.* Роль окислительной модификации белков в редокс-зависимой регуляции апоптоза опухолевых клеток. Молекулярная медицина. 2015; 4: 60–64. [Stepovaya E.A., Ryzantseva N.V., Nosareva O.L., Zakirova E.V., Naumova A.I., Vesnina O.N., Orlov D.S., Shakhristova E.V., Ivanov V.V., Novitsky V.V.] The role of oxidative protein modification in redox-dependent regulation of tumor cell apoptosis. *Molecular medicine.* 2015; 4: 60–64. (in Russian)].
6. *Shakhristova E.V., Stepovaya E.A., Ryzantseva N.V., Nosareva O.L., Yakushina V.D., Ivanov V.V., Novitsky V.V.* Role of Glutathione System Redox Potential in Apoptosis Dysregulation in MCF-7 Breast Adenocarcinoma. *Bull Exp Biol Med.* 2016 Jan; 160(3): 364–7. doi: 10.1007/s10517-016-3172-1.
7. *Moldogazieva N.T., Mokhosoev I.M., Feldman N.B., Lutsenko S.V.* ROS and RNS signalling: adaptive redox switches through oxidative/nitrosative protein modifications. *Free Radic Res.* 2018 May; 52(5): 507–543. doi: 10.1080/10715762.2018.1457217.
8. *Marengo B., Nitti M., Furfaro A.L., Colla R., Ciucis C.D., Marinari U.M., Pronzato M.A., Traverso N., Domenicotti C.* Redox Homeostasis and Cellular Antioxidant Systems: Crucial Players in Cancer Growth and Therapy. *Oxid Med Cell Longev.* 2016; 2016: 6235641. doi: 10.1155/2016/6235641.
9. *Mailloux R.J., Treberg J.R.* Protein S-glutathionylation links energy metabolism to redox signaling in mitochondria. *Redox Biol.* 2016 Aug; 8: 110–8. doi: 10.1016/j.redox.2015.12.010.
10. *Dominko K., Đikić D.* Glutathionylation: a regulatory role of glutathione in physiological processes. *Arh Hig Rada Toksikol.* 2018; 69(1): 1–24. doi: 10.2478/aiht-2018-69-2966.
11. *Bak D.W., Weerapana E.* Cysteine-mediated redox signalling in the mitochondria. *Mol Biosyst.* 2015; 11(3): 678–97. doi: 10.1039/c4mb00571f.
12. *Степовая Е.А., Шахристова Е.В., Рязанцева Н.В., Носарева О.Л., Чильчигашев Р.И., Егорова М.Ю.* Система тиоредоксина в регуляции пролиферации клеток линии MCF-7 при модуляции редокс-статуса. Сибирский онкологический журнал. 2016; 15(4): 50–55. [Stepovaya E.A., Shakhristova E.V., Ryzantseva N.V., Nosareva O.L., Chil'chigashev R.I., Egorova M.Y.] The thioredoxin system in regulating MCF-7 cell proliferation under redox status modulation. *Siberian Journal of Oncology.* 2016; 15(4): 50–55. (in Russian)]. doi: 10.21294/1814-4861-2016-15-4-50-55.
13. *Nosareva O.L., Stepovaya E.A., Ryzantseva N.V., Shakhristova E.V., Egorova M.Y., Novitsky V.V.* The Role of the Glutathione System

- in Oxidative Modification of Proteins and Dysregulation of Apoptosis in Jurkat Tumor Cells. *Bull Exp Biol Med.* 2017; 164(2): 199–202. doi: 10.1007/s10517-017-3957-x.
14. *Šalamon Š., Kramar B., Marolt T.P., Poljšak B., Milisav I.* Medical and Dietary Uses of N-Acetylcysteine. *Antioxidants (Basel).* 2019 Apr 28; 8(5): 111. doi: 10.3390/antiox8050111.
15. *Kojima S., Nakayama K., Ishida H.* Low dose gamma-rays activate immune functions via induction of glutathione and delay tumor growth. *J Radiat Res.* 2004 Mar; 45(1): 33–9. doi: 10.1269/jrr.45.33.
16. *Burchill B.R., Oliver J.M., Pearson C.B., Leinbach E.D., Berlin R.D.* Microtubule dynamics and glutathione metabolism in phagocytizing human polymorphonuclear leukocytes. *J Cell Biol.* 1978; 76(2): 439–47. doi: 10.1083/jcb.76.2.439.
17. *Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н.* Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты организма. СПб.; 2000. 103 с. [Arutyunyan A.V., Dubinina E.E., Zybinina N.N.] Methods of assessing free radical oxidation and antioxidant defense of the body. Saint-Peterburg; 2000. 103 p. (in Russian)].
18. *Bradford M.M.* A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 1976 May 7; 72: 248–54. doi: 10.1006/abio.1976.9999.
19. *Merritt J.E., McCarthy S.A., Davies M.P., Moores K.E.* Use of fluo-3 to measure cytosolic Ca<sup>2+</sup> in platelets and neutrophils. Loading cells with the dye, calibration of traces, measurements in the presence of plasma, and buffering of cytosolic Ca<sup>2+</sup>. *Biochem. J.* 1990; 269(2): 513–9. doi: 10.1042/bj2690513.
20. *Gomes A., Fernandes E., Lima J.L.* Fluo rescence probes used for detection of reactive oxygen species. *J Biochem Biophys Methods.* 2005 Dec 31; 65(2–3): 45–80. doi: 10.1016/j.jbbm.2005.10.003.
21. *Briehl M.M., Tome M.E., Wilkinson S.T., Jaramillo M.C., Lee K.* Mitochondria and redox homeostasis as chemotherapeutic targets. *Biochem Soc Trans.* 2014 Aug; 42(4): 939–44. doi: 10.1042/BST20140087.
22. *Munro D., Treberg J.R.* A radical shift in perspective: mitochondria as regulators of reactive oxygen species. *J Exp Biol.* 2017; 220(Pt 7): 1170–80. doi: 10.1242/jeb.132142.
23. *Wang Y., Xia Y., Lu Z.* Metabolic features of cancer cells. *Cancer Commun. (Lond).* 2018 Oct 30; 38(1): 65. doi: 10.1186/s40880-018-0335-7.
24. *Xiao M., Zhong H., Xia L., Tao Y., Yin H.* Pathophysiology of mitochondrial lipid oxidation: Role of 4-hydroxynonenal (4-HNE) and other bioactive lipids in mitochondria. *Free Radic Biol Med.* 2017 Oct; 111: 316–327. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2017.04.363.
25. *Zou Z., Chang H., Li H., Wang S.* Induction of reactive oxygen species: an emerging approach for cancer therapy. *Apoptosis.* 2017 Nov; 22(11): 1321–1335. doi: 10.1007/s10495-017-1424-9.
26. *Орлов Д.С., Рязанцева Н.В., Степовая Е.А., Носарева О.Л., Шахристова Е.В., Иванов В.В.* Редокс-зависимые механизмы дисрегуляции апоптоза опухолевых клеток при гипоксии. Сибирский научный медицинский журнал. 2017; 37(1): 21–26. [Orlov D.S., Ryzantseva N.V., Stepovaya E.A., Nosareva O.L., Shakhristova E.V., Ivanov V.V.] Mechanisms of apoptosis dysregulation in cancer cells under the conditions of redox status modulation. *Siberian Scientific Medical Journal.* 2017; 37(1): 21–26. (in Russian)]. doi: 10.21294/1814-4861-2016-15-6-42-47

Поступила/Received 05.08.2019  
Принята в печать/Accepted 11.10.2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Носарева Ольга Леонидовна**, доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). E-mail: [olnosareva@yandex.ru](mailto:olnosareva@yandex.ru). SPIN-код: 5688-7566. Researcher ID (WOS): E-7153-2016. Author ID (Scopus): 22955735900. ORCID: 0000-0002-7441-5554.

**Орлов Дмитрий Сергеевич**, ассистент кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 3625-3717. Researcher ID (WOS): B-9329-2017. Author ID (Scopus): 56478510500. ORCID: 0000-0001-7525-0176.

**Шахристова Евгения Викторовна**, кандидат медицинских наук, доцент кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 8125-6414. Researcher ID (WOS): F-9564-2015. Author ID (Scopus): 42762264000. ORCID: 0000-0003-2938-1137.

**Степовая Елена Алексеевна**, доктор медицинских наук, профессор кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 5562-4522. Researcher ID (WOS): N-4039-2016. Author ID (Scopus): 6603230755. ORCID: 0000-0001-9339-6304.

**Садыкова Анна Алексеевна**, кандидат медицинских наук, доцент кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 1275-9603. Researcher ID (WOS): E-5929-2018. Author ID (Scopus): 57207964294. ORCID: 0000-0003-4093-4927.

ВКЛАД АВТОРОВ

**Носарева Ольга Леонидовна**: анализ научной работы, составление черновика рукописи, набор экспериментального материала, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

**Орлов Дмитрий Сергеевич**: набор экспериментального материала, статистическая обработка, составление черновика рукописи.

**Шахристова Евгения Викторовна**: анализ научной работы, составление черновика рукописи, набор экспериментального материала, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

**Степовая Елена Алексеевна**: разработка концепции научной работы, анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

**Садыкова Анна Алексеевна**: анализ научной работы, составление черновика рукописи.

**Финансирование**

*Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.*

**Конфликт интересов**

*Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.*

ABOUT THE AUTHORS

**Olga L. Nosareva**, MD, DSc, Professor of the Division of Biochemistry and Molecular Biology with Clinical Laboratory Diagnostics, Siberian State Medical University (Tomsk, Russia). E-mail: [olnosareva@yandex.ru](mailto:olnosareva@yandex.ru). Researcher ID (WOS): E-7153-2016. Author ID (Scopus): 22955735900. ORCID: 0000-0002-7441-5554.

**Dmitry S. Orlov**, Assistant of the Division of Biochemistry and Molecular Biology with Clinical Laboratory Diagnostics Siberian State Medical University (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): B-9329-2017. Author ID (Scopus): 56478510500. ORCID: 0000-0001-7525-0176.

**Evgenija V. Shakhristova**, MD, PhD, Associate Professor of the Division of Biochemistry and Molecular Biology with Clinical Laboratory Diagnostics, Siberian State Medical University (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): F-9564-2015. Author ID (Scopus): 42762264000. ORCID: 0000-0003-2938-1137.

**Elena A. Stepovaya**, MD, DSc, Professor, Division of Biochemistry and Molecular Biology with Clinical Laboratory Diagnostics Siberian State Medical University (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): N-4039-2016. Author ID (Scopus): 6603230755. ORCID: 0000-0001-9339-6304.

**Anna A. Sadykova**, MD, PhD, Associate Professor of the Division of Biochemistry and Molecular Biology with Clinical Laboratory Diagnostics Siberian State Medical University (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): E-5929-2018. Author ID (Scopus): 57207964294. ORCID: 0000-0003-4093-4927.

AUTHOR CONTRIBUTION

**Olga L. Nosareva**: analysis of the study results, drafting of the manuscript, data collection, critical revision for the important intellectual content.

**Dmitry S. Orlov**: data collection, statistical data analysis, drafting of the manuscript.

**Evgenija V. Shakristova:** analysis of the study results, drafting of the manuscript, data collection, critical revision for the important intellectual content.

**Elena A. Stepovaya:** concept design, analysis of the study results, critical revision for the important intellectual content.

**Anna A. Sadykova:** analysis of the study results, drafting of the manuscript.

***Funding***

*This study required no funding.*

***Conflict of interest***

*The authors declare that they have no conflict of interest.*