

ПРОЦЕСС АПОПТОЗА ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ОРЕКСИНОВ

Дятлова А.С., Новикова Н.С., Деревцова К.З., Корнева Е.А.

ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Орексины А и В – нейропептиды, синтезирующиеся небольшой популяцией нейронов латерального гипоталамуса. Их физиологическая функция заключается, главным образом, в регуляции цикла «сон-бодрствование», пищевого поведения, энергетического гомеостаза. Аксоны орексин-содержащих нейронов проецируются во многие структуры головного и спинного мозга, что обеспечивает разнообразие их физиологических эффектов. Кроме того, компоненты орексинергической системы идентифицированы в различных периферических органах и тканях. Эффекты орексинов реализуются двумя рецепторами (OX1R и OX2R), связанными с G-белками (GPCRs). Классический путь передачи сигнала в нейрональных клетках через орексиновые рецепторы включает в себя увеличение концентрации внутриклеточного кальция в результате открытия мембранных каналов типа TRPC и каналов эндоплазматического ретикулума (ЭПР) типа IP3. Помимо этого, классического сигналинга орексиновых рецепторов, существует альтернативный путь, передача сигналов по которому приводит к апоптозу опухолевых клеток. Этот путь, вероятно, обусловлен структурной особенностью орексиновых рецепторов по сравнению с другими GPCRs – наличием иммунорецепторного мотива ингибирования на основе тирозина (ITIM). Такие мотивы не свойственны GPCRs, но являются отличительным признаком иммуоингибирующих рецепторов на лимфоидных и миелоидных клетках. ITIM рекрутирует либо белковые тирозинфосфатазы SHP1 и SHP2, либо инозитолфосфатазы SHIP1 и SHIP2 для опосредования негативной передачи сигналов. Дальнейший механизм так называемого орексин-индуцируемого апоптоза, по-видимому, включает в себя фосфорилирование p38/MAPK и высвобождение цитохрома с из митохондрий, с последующей активацией каспаз 3 и 7 и гибелью клеток. Следует подчеркнуть, что этот альтернативный путь представлен только в опухолевых клетках определенных типов. В настоящем обзоре обобщены имеющиеся данные об орексин-индуцированном апоптозе опухолевых клеток кишечника, поджелудочной железы, желудка, предстательной железы, эндометрия, надпочечников и глии, а также рассмотрены возможные механизмы его реализации.

Ключевые слова: орексины А, орексины В, рецепторы к орексинам, орексин-индуцированный апоптоз, опухолевые клетки, противоопухолевый эффект

Адрес для переписки:

Корнева Елена Андреевна
ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»
197376, Россия, Санкт-Петербург,
ул. Акад. Павлова, 12.
Тел.: 8 (812) 234-07-24.
E-mail: Korneva_helen@mail.ru

Address for correspondence:

Korneva Elena A.
Institute of Experimental Medicine
197376, Russian Federation, St. Petersburg,
Acad. Pavlov str., 12.
Phone: 7 (812) 234-07-24.
E-mail: Korneva_helen@mail.ru

Образец цитирования:

А.С. Дятлова, Н.С. Новикова, К.З. Деревцова, Е.А. Корнева «Процесс апоптоза опухолевых клеток при воздействии орексинов» // Медицинская иммунология, 2021. Т. 23, № 3. С. 421-438.
doi: 10.15789/1563-0625-TCA-2105
© Дятлова А.С. и соавт., 2021

For citation:

A.S. Diatlova, N.S. Novikova, K.Z. Derevtsova, E.A. Korneva "Tumor cell apoptosis mediated by the orexins", *Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya*, 2021, Vol. 23, no. 3, pp. 421-438.
doi: 10.15789/1563-0625-TCA-2105
DOI: 10.15789/1563-0625-TCA-2105

TUMOR CELL APOPTOSIS MEDIATED BY THE OREXINS

Diatlova A.S., Novikova N.S., Derevtsova K.Z., Korneva E.A.

Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Orexins A and B are neuropeptides synthesized by a population of lateral hypothalamic neurons. Orexin's physiological function consists mainly in regulating the sleep-wake cycle, eating behavior, and energy homeostasis. Axons of orexin-containing neurons are projected onto many structures of brain and spinal cord, thus providing a variety of their physiological effects. Moreover, the components of the orexinergic system are identified in various peripheral organs and tissues. The effects of orexins are mediated via two receptors (OX1R and OX2R) coupled with G-proteins (GPCRs). The classical signal transmission pathway through orexin receptors in neuronal cells includes an increase of the intracellular calcium as a result of the opening of TRPC membrane channels and IP3 endoplasmic reticulum (ER) channels. In addition to the classic orexin receptors signaling, there is an alternative pathway. Signal transmission through the alternative pathway leads to apoptosis of tumor cells. This pathway is probably due to the structural feature of orexin receptors compared to other GPCRs – the presence of a tyrosine-based immunoreceptor inhibition motif (ITIM). Such motifs are not limited to GPCRs, but are a hallmark of immuno-inhibiting receptors on lymphoid and myeloid cells. ITIM recruits either SHP1 and SHP2 protein tyrosine phosphatases or SHIP1 and SHIP2 inositol phosphatases, to mediate negative signal transduction. A further mechanism of the so-called orexin-induced apoptosis seems to include the p38/MAPK phosphorylation and the cytochrome c releasing from mitochondria, followed by activation of caspases 3 and 7 and cell death. It should be emphasized that this alternative pathway is present only in certain types of tumor cells. This review summarizes the available data on orexin-induced apoptosis of tumor cells from intestines, pancreas, stomach, prostate, endometrium, adrenal glands and glia, and also considers possible mechanisms for its implementation.

Keywords: orexins A, orexins B, orexin receptors, orexin-induced apoptosis, tumor cells, antitumor effect

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-11-00001.

Введение

Орексины А и В, также известные как гипокретины 1 и 2, были одновременно открыты двумя независимыми исследовательскими группами в 1998 г. [14, 48]. Орексины синтезируются главным образом в области латерального гипоталамуса, при протеолитическом расщеплении предшественника – препроорексина длиной 131 аминокислотных остатка (а/о) [41]. Орексин А содержит 33 а/о, орексин В – 28 а/о; их аминокислотный состав на 46% гомологичен. Пространственная структура орексина А примечательна тем, что он содержит два внутримолекулярных дисульфидных мостика (Cys6-Cys12, Cys7-Cys14), в то время как структура орексина В линейна. Ген, кодирующий препроорексин, обладает высоким уровнем консервативности среди позвоночных, что свидетельствует о важной физиологической функции орексинов [61].

Аксоны орексин-содержащих нейронов проецируются во многие структуры головного и спинного мозга, что обеспечивает разнообразие их физиологических эффектов, которые реализуются через два метаботропных рецептора, сопряженных с G-белками – рецептор орексина типа 1 (OX1R) и типа 2 (OX2R). Аминокислотная гомология OX1R и OX2R составляет 64%. OX1R имеет высокое сродство к орексину А, в то время как OX2R неселективен по отношению к обоим типам орексинов [19]. Хотя рецепторы орексинов имеют некоторые структурные сходства с рецепторами других нейропептидов, например нейропептида Y и меланокортина, они не демонстрируют связывания с нейропептидом Y, меланокортином и секретинном, что еще раз свидетельствует о высокой избирательности рецепторов по отношению к лиганду [61].

Как было сказано выше, обширные проекции орексинергических нейронов во многие области ЦНС определяют широкий спектр физиологических функций орексинов, среди которых регуляция цикла сон-бодрствование и пищевого поведения [28, 36]. Кроме того, показана роль

орексинергической системы в регуляции системы вознаграждения и формировании зависимостей, функций иммунной системы [1, 22].

В настоящее время компоненты орексинергической системы идентифицированы в различных периферических органах и тканях: в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ), включая толстую кишку; поджелудочной железе; надпочечниках, почках; жировой ткани и репродуктивном тракте [23, 25, 34, 43, 53]. Экспрессия рецепторов к орексинам на опухолевых клетках впервые была обнаружена Harris и соавт. (2002) и Rouet-Benzineb и соавт. (2004). В работе Harris и соавт. (2002) была обнаружена мРНК рецептора OX2R на опухолевых клетках поджелудочной железы линии AR42J, в то время как Rouet-Benzineb и соавт. (2004) выявили экспрессию мРНК OX1R на клетках нейробластомы человека линии SK-N-MC и клетках карциномы толстой кишки человека линий HT29-D4, Caco-2, SW480 и LoVo. Экспрессия орексинов в периферических тканях была исследована с использованием методов иммуногистохимии и/или ПЦР в реальном времени. Следует отметить, что анализ литературы, связанной с экспрессией орексинов на периферии, свидетельствует о вариабельности относительно уровня орексинов в тканях и наличия или отсутствия их экспрессии. Это может быть связано с используемыми методиками, в частности со специфичностью антител к орексинам, и/или чувствительностью ПЦР, которая отражает только присутствие препроорексиновых транскриптов, хотя очевидно, что далеко не во всех органах представлены клетки, синтезирующие орексины.

Концентрация циркулирующего базального орексина в крови по разным данным составляет от 2 до 45 пМ, что примерно в 1000 раз меньше, чем концентрация полумаксимального ингибирования (IC50) орексиновых рецепторов, оцениваемая в несколько десятков наномоль/л [35, 47].

Помимо хорошо изученных функций орексинергической системы и ее составляющих, существуют данные об участии орексинов и их рецепторов в ингибировании клеточного роста и активации процессов апоптоза опухолевых клеток различных линий.

Проблема создания новых противоопухолевых препаратов с высокой избирательностью остается одной из самых актуальных в современной онкологии и молекулярной биологии. Известно, что аминокислоты и пептиды проникают через мембраны опухолевых клеток быстрее, чем через мембраны нормальных клеток, поэтому представляет особый интерес изучение орексинов как возможных противоопухолевых агентов.

В первой части данного обзора рассмотрены имеющиеся литературные данные о так называемом орексин-индуцированном апоптозе, классифицированные по типам клеток и тканей, на которых были проведены исследования. Во второй части – обобщены представления о механизмах орексин-индуцированного апоптоза.

Орексин-индуцированный апоптоз в опухолевых клетках различных линий

В 2004 г. группа американских исследователей, возглавляемая Thierry Voisin, опубликовала статью, посвященную изучению влияния орексинов А и В в различных концентрациях на процесс пролиферации клеток – нормальных и опухолевых. Изначально перед авторами стояла задача изучить действие естественных пептидных гормонов и нейропептидов кишечника на рост опухолевых клеток линии HT29-D4 (аденокарцинома толстой кишки человека). Среди 26 изученных веществ орексины А и В были единственными пептидами, в значительной степени ингибирующими рост опухолевых клеток, в то время как другие пептиды кишечника не оказывали такого эффекта или, как в случае грелина, напротив, стимулировали клеточный рост. Это побудило исследователей рассмотреть орексины как потенциальные противоопухолевые агенты в отношении опухолевых клеток кишечника. Авторы выяснили, что орексины не влияют на пролиферацию клеток HT29-D4, но при этом индуцируют их апоптоз, что в целом снижает показатель клеточного роста. Анализ экспрессии орексиновых рецепторов OX1R и OX2R в клетках HT29-D4 методами ПЦР в реальном времени и иммунофлуоресценции позволил обнаружить, что клетки HT29-D4 экспрессируют OX1R, но не OX2R. Авторы проанализировали экспрессию OX1R и проапоптотическое влияние орексина В на клетки других линий аденокарциномы толстой кишки человека – SW480 и LoVo, аденокарциномы ободочной кишки человека – Caco-2 и карциномы толстой кишки человека HCT116. Экспрессия OX1R наблюдалась в клетках аденокарциномы линий Caco-2, SW480, LoVo, но не в клетках линии карциномы HCT116. В соответствии с этими данными, орексин В значительно ингибирует стимулированный сывороткой рост клеток и вызывает апоптотические изменения в клетках Caco-2, SW480 и LoVo, но не в клетках HCT116. Кроме того, авторы исследовали экспрессию OX1R в слизистой оболочке толстой кишки человека в норме, при помощи ПЦР в реальном времени, с использованием тотальной РНК, выделенной из препаратов эпителиальных клеток трех пациентов, и не обнаружили экс-

прессии мРНК OX1R в тех же условиях, при которых специфические продукты амплификации были выявлены в клеточных линиях рака толстой кишки человека. Для исследования процессов апоптоза в культуре эпителиальных клеток толстой кишки человека использовали эксплантаты толстой кишки (поляризованные эпителиальные клетки и базальную собственную пластинку), сохраняющие морфологическую целостность в течение 24-часового периода культивирования. В течение пробного периода культивирования в спонтанный апоптоз вступало незначительное количество клеток (менее 1%). Инкубация в течение 24 часов с 1 мкМ орексина В не приводила к увеличению доли клеток, вступивших в апоптоз.

Таким образом, орексин В индуцировал апоптоз опухолевых клеток линий HT29-D4, Caco-2, SW480 и LoVo, но не оказывал такого эффекта на клетки слизистой оболочки толстой кишки в норме [45]. Интересно, что в качестве исследуемого орексина авторы выбрали орексин В, хотя экспрессия OX2R, с которым он избирательно связывается, не была обнаружена в исследуемых тканях.

В более позднем исследовании Voisin и соавт. (2011) изучали влияние уже орексина А на девять линий клеток опухолей толстой кишки человека, полученных из первичных опухолей или метастазов в печени. Было продемонстрировано, что все изучаемые культуры клеток экспрессировали мРНК OX1R и, при добавлении орексина А, вступали в апоптоз, чего не наблюдалось в культурах без добавления орексина А, а также в контрольных окружающих опухоль колоноцитах или гепатоцитах. Что более интересно, орексин А инициировал процесс апоптоза в культуре клеток, устойчивых к действию 5-фторурацила – соединения, наиболее часто используемого при химиотерапии опухолей толстой кишки [20]. Кроме того, была проведена ксенотрансплантация клеток опухоли толстой кишки человека мышам линии Nude с целью оценки скорости роста опухоли при введении мышам орексина А. При интраперитонеальном введении орексина А в дозах от 0,112 до 11,2 мкМ/кг мышам в день ксенотрансплантации опухолевых клеток и далее ежедневно в течение 30 дней наблюдалось значительное (на 80%) снижение роста опухоли или даже последующая остановка ее роста. О побочных эффектах, вызванных введением орексина А, не сообщалось. Таким образом, воздействие орексина А на OX1R приводит к выраженному снижению интенсивности роста опухолевых клеток толстой кишки, даже при наличии метастазирования и химиорезистентности. Авторы предполагают, что

агонисты OX1R могут быть новыми кандидатами для терапии опухолей толстой кишки [54, 58].

Клетки карциномы толстой кишки человека линии HCT-116, которая в исследовании Viosn и соавт. (2004) не демонстрировала орексин-индуцированный апоптоз, была повторно изучена в 2016 году в работе Wen и соавт. Авторы изучали орексин А как вещество, потенциально моделирующее аутофагию в клетках линии HCT-116. Добавление орексина А в концентрации 0,1 мкМ ингибировало рост клеток линии HCT-116, повышая скорость их апоптоза практически в 3 раза по сравнению с контролем, что приводило к снижению количества опухолевых клеток. При этом концентрация орексина А 0,1 мкМ была наиболее эффективной: отсутствие орексина А и добавление орексина А в концентрации 1 нМ не оказывало влияния на скорость апоптоза клеток линии HCT-116, а орексин А в концентрации 10 нМ повышал скорость апоптоза клеток примерно в 2 раза. Также продемонстрировано, что добавление в культуру опухолевых клеток орексина А в концентрации 0,1 мкМ приводит к образованию мембран-ассоциированных вакуолей, свойственных для аутофагии, чего не наблюдалось в контрольных экспериментах без добавления орексина. Кроме того, при добавлении орексина в культуру клеток наблюдалось повышенное количество кислых везикулярных органелл (AVOs), что также является характерной особенностью процессов аутофагии. В клетках контрольных культур AVOs не наблюдались. Об аутофагии свидетельствовало также увеличение количества белка-маркера аутофагосом LC3-II в клетках после добавления орексина А по сравнению с контрольными клетками [58]. Известно, что аутофагия – один из типов программируемой клеточной гибели. Аутофагия регулируется группой генов *ATG* (autophagy-related genes) и детектируется практически во всех клетках организма на базальном уровне. Изменения в сигнальных путях, связанные с аутофагией, часто происходят при различных видах патологии, в том числе при злокачественных новообразованиях. Многочисленные экспериментальные и клинические исследования в области онкологии показали важную роль аутофагии в механизмах обеспечения резистентности или чувствительности к широкому спектру противоопухолевых препаратов. Предполагается возможность модуляции уровня аутофагии опухолевых клеток для повышения эффективности противоопухолевой терапии.

Проанализирована экспрессия орексиновых рецепторов OX1R в клетках поджелудочной железы человека в норме, при протоковой адено-

карциноме поджелудочной железы (PDAC) и ее диспластических интраэпителиальных поражениях (предшественниках PDAC). 96% клеток PDAC экспрессировали OX1R, в то время как в тканях поджелудочной железы в норме экспрессия OX1R не обнаруживалась. Кроме того, экспрессия OX1R была обнаружена при предраковых диспластических интраэпителиальных поражениях. Клетки линии AsPC-1, полученной из PDAC, также экспрессировали OX1R, и при добавлении орексина А происходила активация процессов апоптоза. Однако клетки линии HPAF-II (карцинома поджелудочной железы человека) не экспрессировали OX1R и не подвергались апоптозу при добавлении в культуру орексина А. Ксенотрансплантация клеток линии AsPC-1 или рецепиентных клеток рака поджелудочной железы мышам линии Nude и интраперитонеальное введение орексина А ежедневно в течение 30 дней, начиная с дня инокуляции клеточной линии, приводило к снижению объема опухоли в 2 раза (по результатам сравнения на 30-й день после инокуляции). Такой же противоопухолевый эффект орексина наблюдался и при начале лечения на 14-й день после инокуляции клеток. О побочных эффектах при введении орексина А не сообщалось. Таким образом, орексин А через OX1R ингибирует клеточный рост опухоли PDAC, активируя процесс апоптоза [13].

Другие данные получены Suo L. и соавт. (2018), по мнению которых стимуляция рецептора OX1R посредством добавления орексина А способствует пролиферации клеток линии PANC1 (карцинома поджелудочной железы). Добавление орексина А в культуру неопухолевых клеток поджелудочной железы HPC-Y5 не вызывает увеличения пролиферации. Кроме того, обработка орексином А предотвращает апоптоз клеток PANC1, тогда как ингибирование OX1R приводит к апоптозу путем регулирования уровней экспрессии в клетках проапоптотических белков Bcl-2, каспазы-9 и с-мус. Авторы считают, что стимуляция рецептора OX1R может быть важна для регуляции онкогенеза при раке поджелудочной железы и является потенциальной мишенью для лечения пациентов с данным типом рака [49].

В работе Wen и соавт. (2014) экспрессия мРНК рецептора OX1R обнаружена в клетках линии BGC-823 (карцинома желудка человека). При этом мРНК OX2R в клетках BGC-823 не экспрессировалась. Авторы показали дозозависимый эффект орексина А на культуру клеток BGC-823. Добавление в клеточную культуру орексина А в концентрации 1 мкМ приводило к повышению экспрессии рецептора OX1R в 2 раза, но

при использовании препарата в высоких дозах — 100 мкМ — происходило увеличение пролиферации и жизнеспособности клеток BGC-823 на 150%. Апликация антагониста рецептора OX1R (SB334867) отменяла действие орексина А [59].

Аналогичное исследование было проведено той же научной группой на другой клеточной линии карциномы желудка человека (SGC-7901), и получены идентичные результаты: в клетках SGC-7901 обнаружили экспрессию мРНК рецептора OX1R, но не OX2R; добавление орексина А в концентрации 1 мкМ приводило к увеличению экспрессии OX1R в 2,5 раза по сравнению с контролем (эффект был дозозависим). Орексин А в концентрации 1 мкМ повышал пролиферацию клеток на 80% и жизнеспособность на 60%. Вместе с тем, при апликации орексина А дозозависимо снижалось количество клеток линии SGC-7901, вступающих в апоптоз. Наибольший эффект оказывало добавление орексина А в концентрациях 100 мкМ и 1 мкМ. Введение антагониста SB334867 отменяло действие орексина А [30].

В 2020 году опубликовано исследование Ну и соавт. (2020), посвященное изучению содержания орексина А, а также экспрессии рецепторов OX1R и OX2R в биоптатах, полученных от пациентов с раком желудка и пациентов с хроническим атрофическим гастритом. Кроме того, оценивали уровень воспаления и наличие *Helicobacter pilory*. Концентрация орексина А, определяемая методом ELISA, значительно повышена в биоптатах пациентов с диагнозом «рак желудка», по сравнению с их концентрацией у пациентов контрольной группы и пациентов с хроническим атрофическим гастритом. Наиболее выраженная степень воспаления также была обнаружена в образцах, полученных от пациентов, страдающих раком желудка. При этом экспрессия OX1R и OX2R, выявляемая как иммуногистохимическими методами, так и методом ПЦР в реальном времени, значительно снижена по сравнению с их экспрессией у здоровых людей и пациентов с хроническим атрофическим гастритом. Кроме того, уровень препроорексина, определяемый методом ПЦР в реальном времени, также был значительно снижен в биоптатах больных раком желудка. Таким образом, несмотря на то, что в опухолевых клетках линий BGC-823 и SGC-7901 не наблюдалась экспрессия OX2R, она обнаруживалась в клетках биоптатов. Судя по всему, снижение как мРНК орексиновых рецепторов, так и количества этих белков является одним из маркеров рака желудка.

Alexandre и соавт. (2014) обнаружили, что экспрессия OX1R наблюдается в образцах, полученных от пациентов с раком простаты различных стадий, а также в андроген-независимых клетках рака предстательной железы линии DU145, но не обнаруживается в андроген-зависимых клетках линии LNCaP. Орексины А и В индуцировали апоптоз клеток DU145, подвергнутых нейроэндокринной дифференцировке, что выражалось в снижении относительной активности каспаз 3/7 в 1,5 раза без изменения количества жизнеспособных клеток [2].

Однако годом позже Valinate и соавт. (2015) впервые при иммуногистохимическом окрашивании обнаружили присутствие орексина А и его рецептора OX1R в андроген-зависимых клетках рака предстательной железы человека LNCaP. Сами авторы объяснили расхождение с исследованием Alexandre и соавт. (2014) вероятными методическими несоответствиями. В работе Valinate и соавт. также продемонстрировано, что орексин А и рецептор OX1R обнаруживаются в тканях рака предстательной железы (РПЖ) независимо от стадии заболевания, что соответствовало ранее полученным результатам [2]. Подтверждена экспрессия мРНК OX1R, а также обнаружена экспрессия мРНК препроорексина в тканях РПЖ. Добавление орексина А в концентрации 10 мкМ в культуру клеток линии LNCaP приводило к усилению экспрессии рецептора OX1R, а это, в свою очередь, вызывало снижение выживаемости опухолевых клеток в 1,5 раза по сравнению с контролем. Добавление в систему антагониста рецептора OX1R SB-408124 предотвращало ингибирующее действие орексина-А на выживаемость клеток.

Примечательно, что наномолярные концентрации пептида (0,1 нМ – 0,01 нМ) вызывали значительное снижение ядерной транслокации андрогенового рецептора в клетках LNCaP (данный эффект также отменялся при добавлении в культуру клеток SB-408124). Эти данные указывают на то, что взаимодействие орексина А с OX1R влияет на активность андрогенового рецептора, который регулирует возникновение и прогрессирование рака предстательной железы [11, 26, 52, 56]. Таким образом, орексин А и его рецептор могут представлять новые терапевтические мишени для борьбы с данным типом рака [53].

Szyszka и соавт. (2015), также исследовавшие экспрессию препроорексина и орексиновых рецепторов OXR1 и OXR2 в клетках линий PrEC, PrSc, PrSmC (нормальные клетки простаты) и клетках Du145, LNCaP и PC3 (карцинома простаты) методом ПЦР и количественной ПЦР,

не обнаружили экспрессии генов *ppOX*, *OXR1* и *OXR2* на уровне мРНК, а в клетках контрольных тканей (ткани плаценты и надпочечников человека) их экспрессия наблюдалась. Авторы предполагают, что заявленные ранее предпосылки для экспрессии этих генов в клеточных линиях простаты и предстательной железы, возможно, возникли либо из-за присутствия в исследуемых линиях непростатических клеток, включенных в образцы, либо из-за методологических несоответствий [50].

Оценена интенсивность экспрессии рецепторов OX1R и OX2R как биомаркеров для скрининга ранней стадии рака шейки матки [51]. Авторы использовали методы ПЦР и иммуногистохимии для определения экспрессии OX1R и OX2R в биоптатах, полученных от пациенток с раком шейки матки и пациенток с цервицитом, инфицированных вирусом папилломы человека. Уровень экспрессии оценивали, учитывая степень дифференцировки рака шейки матки (низкий, средний или высокий). Между исследуемыми группами не было значительных различий в экспрессии OX1R, но экспрессия OX2R была значительно повышена у пациенток с раком шейки матки (по сравнению с пациентками с диагнозом «цервицит»). Экспрессия OX1R не обнаруживалась в клетках контрольной ткани – плаценте человека, в отличие от экспрессии OX2R. Таким образом, авторы предполагают, что OX2R может служить индикатором инвазивной способности клеток при раке шейки матки [51]. Следует отметить, что отсутствие экспрессии OX1R противоречит ранее опубликованным результатам.

Ранее экспрессию рецепторов OX2R и ее эпигенетическую регуляцию исследовали в клетках эндометрия человека, а также карциномы эндометрия. Иммуногистохимически показано, что OX2R представлены в клетках эндометрия в норме (преимущественно в железистых клетках), в то время как в клетках карциномы эндометрия они не окрашивались или окрашивались слабо. При карциноме эндометрия степень метилирования участка CpG, расположенного в экзоне 1 гена *OX2R*, повышалась практически в 10 раз и снижалась в клетках карциномы эндометрия в поздней стадии развития процесса. Исследования, проведенные на клетках линий карциномы эндометрия (ECC-1, Ishikawa и MFE-280), позволили установить корреляцию между степенью метилирования первого экзона и отсутствием экспрессии гена *OX2R* [15], что согласуется с недавним предположением о том, что метилирование первых экзонов действительно является одной из основных причин, приводящих к молчанию генов [9].

Подобные наблюдения о снижении скорости метилирования на поздних стадиях опухоли уже были сделаны, например, при колоректальном раке, при котором гиперметилирование Обметилгуанин-ДНК-метилтрансферазы (MGMT) более интенсивно при карциномах T1/T2, чем на более поздних стадиях T3/T4 [33].

мРНК рецептора OX1R, но не OX2R, была обнаружена в клетках линии Hep3B (гепатоцеллюлярная карцинома человека) и в 28 из 41 клинических образцов клеток гепатоцеллюлярного рака. При этом 9 из 14 контрольных образцов ткани печени клетки также экспрессировали OX1R, но не OX2R. Авторы продемонстрировали, что добавление орексина А в концентрации 1-100 нМ в культуру клеток Hep3B приводит к увеличению экспрессии переносчика глюкозы GLUT1 и повышает интенсивность окислительного фосфорилирования, но не гликолиза. Аналогичные результаты получены той же группой авторов на клетках линии гепатоцеллюлярной карциномы человека HepG2. Вопрос, каким образом изменения метаболизма глюкозы влияют на опухолевые процессы, остается открытым. Требуется дальнейшие исследования, чтобы определить, способствует ли орексин А повышению жизнеспособности этих типов клеток или уменьшает ее [29, 57].

Ранее экспрессия мРНК OX1R была обнаружена в клетках метастазов печени при раке толстой кишки, но при этом она не наблюдалась в окружающих нормальных гепатоцитах. При добавлении орексина А метастазирующие клетки вступали в апоптоз, чего не наблюдалось в культурах без добавления орексина А, а также в окружающих гепатоцитах [54].

Как известно, орексинергическая система играет важную роль в регуляции функций гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, а рецепторы к орексинам обнаружены в тканях коркового и мозгового вещества надпочечников [24, 38, 46].

Согласно Blanco и соавт. (2002), экспрессия OX1R в норме выявлена иммуногистохимическим методом в клетках коры надпочечников человека (гломерулоза, фасцикула и ретикулярные зоны), а экспрессия OX2R – в мозговом веществе надпочечников. Аналогично, клетки аденокортикальной аденомы (опухоли коры надпочечников) экспрессируют OX1R, но не OX2R. И наоборот, клетки медуллярных опухолей (феохромомцитомы) – только OX2R [8], что согласуется с полученными ранее результатами [32].

Позже продемонстрировано, что аденокортикальные клетки человека (линия NCI-H295R),

инкубированные с орексином А в различных концентрациях (от 10 нМ до 1 мкМ) *in vitro*, экспрессируют мРНК OX1R. Эта реакция выражена при применении орексина А в концентрации 1 мкМ. Апликация орексина А приводила к усилению пролиферации клеток, выработки кортизола и увеличению экспрессии мРНК и белка 3-бета-гидроксистероиддегидрогеназы (3 β -HSD) в клетках NCI-H295R; однако эти эффекты частично блокировались антагонистом рецептора OX1R [10].

Продукция орексина А клетками нейробластомы и ганглиобластомы была продемонстрирована Arihara и соавт. еще в 2000 году, однако его функция в опухолевых клетках мозга не исследовалась [5].

По разным данным, клетки линии нейробластомы экспрессируют [60] и не экспрессируют [6] мРНК рецептора OX1R. В работе Rouet-Benzineb и соавт. (2004) экспрессия мРНК OX1R обнаружена в клетках линии SK-N-MC, а добавление орексинов А и В в диапазоне концентраций от 1 нМ до 1 мкМ приводило к значительному снижению интенсивности роста клеток SK-N-MC. Максимальный эффект наблюдался при концентрации орексинов в 1 мкМ, что приводило к ингибированию роста клеток на 75%. Полумаксимальное ингибирование отмечено при концентрации 5 нМ для обоих орексинов. Добавление орексинов также индуцировало апоптоз клеток SK-N-MC, о чем свидетельствовало окрашивание конденсированных ядер пропидия йодидом, чего в контрольных клетках не наблюдалось [45].

В клетках глиомы крысы (линия C6) – экспериментальной модели мультиформной глиобластомы – обнаружена экспрессия обоих типов рецепторов орексина методом ПЦР в реальном времени. Добавление орексинов А и В в диапазоне концентраций 0,001-1 мкМ в течение 24-48 часов не приводило к изменениям пролиферации клеток линии C6, но снижало их жизнеспособность, причем наиболее выраженное снижение жизнеспособности наблюдалось при апликации орексина А в концентрации 1 мкМ. При добавлении орексина В отмечена тенденция к снижению выживаемости клеток через 24 и 48 ч, но уровень ингибирования не достиг статистической значимости. Так как добавление орексина А в концентрации 1 мкМ вызывало активацию каспазы-3, предполагается, что снижение выживаемости клеток глиомы крысы под действием орексина А опосредовано активацией процесса апоптоза по каспаза-зависимому пути [7]. Интересно, что орексин А, напротив, ингибирует клеточную смерть, вызванную различными пагубными сти-

мулами в неопухолевых культурах нервных и глиальных клеток. Так, в культуре гипоталамических клеток mНуроА-1/2 добавление орексина А отменяло индуцированный пальмитиновой кислотой апоптоз [16], а в культуре астроцитов – снижало вызванные избытком глутамата и недостатком глюкозы повреждения, способствуя повышению экспрессии глутаминового транспортера GLT1 и увеличивало количество поглощенной клетками глюкозы, а также снижало интенсивность апоптоза [62].

Снижение уровня орексина А в клинических образцах спинномозговой жидкости констатировано при опухолях гипоталамуса [37].

Помимо клеток, нативно экспрессирующих мРНК орексиновых рецепторов, распространенным объектом исследования орексин-индуцированного апоптоза являются клетки яичника китайского хомячка (СНО), экспрессирующие рекомбинантные белки OX1R и OX2R.

Так, в первом большом исследовании, проведенном группой Thierry Voisin для исследования орексин-индуцированного апоптоза, авторы использовали клетки СНО/hOX1R и СНО/hOX2R, стабильно экспрессирующие человеческие орексиновые рецепторы OX1R или OX2R. Добавление орексинов А и В в культуры исследуемых клеток приводило к значительному ингибированию роста и апоптозу клеток СНО/hOX1R и СНО/hOX2R, в то время как на родительскую линию клеток СНО-К добавление орексинов влияния не оказывало [45].

Эффекты противоопухолевого действия орексинов показаны на клетках линии СНО, экспрессирующих рекомбинантный OX1R (СНО-OX1). Добавление орексина А в культуру клеток значительно снижало количество жизнеспособных клеток СНО-OX1 в зависимости от концентрации и времени воздействия. Наибольший эффект наблюдался через 72 ч при концентрации орексина А 100 нМ. При этом орексин А вызывал именно гибель клеток, а не ингибирование их роста. Такой эффект орексина А полностью блокировался при добавлении в культуру вещества SB-334867 – антагониста OX1R. Интересно, что аналогичный орексину А эффект вызывал тапсигаргин – соединение, повышающее уровень ионов кальция в цитозоле и вызывающее клеточную гибель в большинстве типов клеток, вероятно, в результате митохондриального стресса. Окрашивание ядер выявило резкую и компактную конденсацию хроматина, что указывает на каспазо-зависимый классический механизм реализации процесса апоптоза как для орексина А, так и для тапсигаргина. Ингибитор панкаспа-

зы Z-VAD-fmk полностью отменял конденсацию хроматина, что подтверждает участие каспаз в этом процессе [3].

Кроме того, авторы исследовали необходимость транскрипции гена *OX1R de novo* и синтеза белка для орексин-индуцированной гибели клеток СНО-OX1. Добавление в культуру ингибиторов синтеза белка (анизомидина и циклогексимида) в концентрациях, не вызывающих гибель клеток, приводило к ингибированию потери жизнеспособности, вызванной орексином А. Аналогично при добавлении в культуру ингибитора транскрипции мРНК (актиномицина D) гибель клеток, вызываемая орексином А, не наблюдалась. Таким образом, транскрипция гена *de novo* и синтез белка необходимы для реализации процесса гибели клеток, вызванной активацией OX1R [3].

Подводя итог, можно сказать, что работы по изучению влияния орексинов на опухолевые клетки различных линий демонстрируют противоречивые результаты, что может быть обусловлено как широким спектром эффектов орексинов, в зависимости от типа исследуемых клеток, так и различными методическими подходами для оценки этих эффектов [21]. В таблице 1 обобщены все имеющиеся данные по исследованию орексинов А и В в опухолевых клетках различных линий. Согласно этим данным, комплекс орексинов и их рецепторов индуцирует развитие апоптотических процессов в опухолевых клетках толстой кишки, предстательной железы, нервной и глиальной тканей. В настоящее время сложно сделать точный вывод о том, какое именно действие орексины оказывают на опухолевые клетки желудка, печени, надпочечников, однако, судя по публикационной активности, интерес к данной теме не угасает и, вероятно, новые работы позволят более точно определить эффекты, оказываемые орексином на интенсивность развития опухолей.

Возможные механизмы орексин-индуцированного апоптоза

В ряде работ продемонстрировано участие каспаз в механизме апоптоза, индуцируемого орексинами и опосредуемого орексиновыми рецепторами. Так, орексины А и В индуцировали процесс апоптоза в клетках различных линий рака толстой кишки, вызывая фрагментацию ДНК, изменения формы клеток, высвобождение цитохрома С из митохондрий в цитозоль и последующую активацию центральных каспаз-3 и каспаз-7 [45, 54]. Те же самые эффекты наблюдались и в клетках нейробластомы человека SK-N-MC и в клетках линии СНО, экспрессирующих рекомбинантный

ТАБЛИЦА 1. ЭКСПРЕССИЯ РЕЦЕПТОРОВ К ОРЕКСИНАМ И ЭФФЕКТЫ ИХ ДЕЙСТВИЯ НА ПРОЦЕССЫ АПОПТОЗА КЛЕТОК ОПУХОЛЕЙ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ

TABLE 1. OREXIN RECEPTORS EXPRESSION AND THE EFFECTS OF OREXINS ON THE APOPTOSIS OF VARIOUS TYPES TUMOR CELLS

Орган Organ	Тип клеток Cell type	Наличие Presence of		Эффекты Effects	
		OX1R	OX2R	ОxА	ОxВ
Толстая кишка Colon	HT-29	+	-	Активация процесса апоптоза [45, 54] Apoptosis activation [45, 54]	Активация процесса апоптоза [45, 54] Apoptosis activation [45, 54]
	HT-29-FU	+	-	Активация процесса апоптоза [54] Apoptosis activation [54]	Активация процесса апоптоза [54] Apoptosis activation [54]
	HT-29-D4	+	-	Активация процесса апоптоза, ингибирование роста клеток Apoptosis activation, cell growth inhibition [45]	Активация процесса апоптоза, ингибирование роста клеток Apoptosis activation, cell growth inhibition [45]
	SW48	+	-	Активация процесса апоптоза [54] Apoptosis activation [54]	Активация процесса апоптоза [54] Apoptosis activation [54]
	SW620	+	-	Активация процесса апоптоза [54] Apoptosis activation [54]	Активация процесса апоптоза [54] Apoptosis activation [54]
	SW480	+	-	Активация процесса апоптоза [45] Apoptosis activation [45]	Активация процесса апоптоза [45] Apoptosis activation [45]
	Caco-2	+	-	Активация процесса апоптоза [54] Apoptosis activation [54]	Активация процесса апоптоза [54] Apoptosis activation [54]
	LoVo	+	-	Активация процесса апоптоза [54] Apoptosis activation [54]	Активация процесса апоптоза [54] Apoptosis activation [54]
	Colo205	+	-	Активация процесса апоптоза [54] Apoptosis activation [54]	Активация процесса апоптоза [54] Apoptosis activation [54]
	T84	+	-	Активация процесса апоптоза [54] Apoptosis activation [54]	Активация процесса апоптоза [54] Apoptosis activation [54]
	LS174T	+	-	Активация процесса апоптоза [54] Apoptosis activation [54]	Активация процесса апоптоза [54] Apoptosis activation [54]
	HCT-116	+/-	-	Ингибирование роста клеток, индукция апоптоза/аутофагии [58]; не оказывал эффекта [45, 54] Cell growth inhibition, apoptosis/autophagy activation [58]; no effect [45, 54]	Отсутствие эффекта [45, 54] No effect [45, 54]
	Ксенографты LoVo Xenografts LoVo			Снижение скорости роста опухоли [45] Tumor growth rate reduction [45]	-

Таблица 1 (окончание)
Table 1 (continued)

Орган Organ	Тип клеток Cell type	Наличие Presence of		Эффекты Effects	
		OX1R	OX2R	OxА	OxB
Толстая кишка Colon	Ксенографты HT-29 Xenografts HT-29			Ингибирование роста опухоли [45] Tumor growth inhibition [45]	-
	Ксенографты HCT-116 Xenografts HCT-116			Не оказывал эффекта [45] No effect [45]	-
Желудок Stomach	BGC-823	+	-	Увеличение экспрессии OX1R; 1,5-кратное увеличение пролиферации и жизнеспособности клеток [59] OX1R expression increase; 1.5-fold increase in cell proliferation and viability [59]	-
	SGC-7901	+	-	Увеличение экспрессии OX1R; увеличение пролиферации и жизнеспособности клеток на 80% [30] OX1R expression increase; 80% increase in cell proliferation and viability [30]	-
Предстательная железа Prostate	LNCaP	+/-	-	Снижение жизнеспособности клеток [53] Cell viability reduction [53]	-
	DU145	+/-	-	Индукция процесса апоптоза [2] Apoptosis activation [2]	Индукция процесса апоптоза [2] Apoptosis activation [2]
Эндометрий Endometrium	ECC-1			Не оказывал эффекта на интенсивность апоптоза [15] No effect on apoptosis [15]	Не оказывал эффекта на интенсивность апоптоза [15] No effect on apoptosis [15]
	Ishikawa			Не оказывал эффекта на интенсивность апоптоза [15] No effect on apoptosis [15]	Не оказывал эффекта на интенсивность апоптоза [15] No effect on apoptosis [15]
	MFE-280			Не оказывал эффекта на интенсивность апоптоза [15] No effect on apoptosis [15]	Не оказывал эффекта на интенсивность апоптоза [15] No effect on apoptosis [15]
Мозг Brain	Глиома крысы C6 Rat glioma C6	+	+	Снижение жизнеспособности клеток [7] Cell viability reduction [7]	Снижение жизнеспособности клеток [7] Cell viability reduction [7]
	Нейробластома SK-N-MC Neuroblastoma SK-N-MC	+/-		Активация процесса апоптоза [55, 60] Apoptosis activation [55, 60]	Активация процесса апоптоза [45] Apoptosis activation [45]

рецептор OX1R [45]. Апоптоз, индуцируемый орексином А в клетках глиомы крысы С6, по-видимому, также является каспаза-зависимым, так как при добавлении орексина А в культуру клеток наблюдалось повышение активности каспазы-3. Ингибитор каспазы Z-VAD-fmk нивелировал апоптотический эффект орексина А [7].

Каспазы при воздействии определенного стимула формируют активные комплексы (апоптосомы) и происходит активация апоптоза. Как известно, классический механизм передачи сигнала через орексиновые рецепторы не приводит к активации каспаз. Он аналогичен всем GPCRs и частично представлен на рисунке 1.

Как известно, G-белки состоят из трех субъединиц – α , β и γ , которые в покое образуют гетеротримерный комплекс $G\alpha\beta\gamma$ [44]. Взаимодействие GPCRs с лигандом ведет к диссоциации комплекса на субъединицы $G\alpha$ и $G\beta\gamma$. Дальнейшая реализация функции GPCR зависит от типа G-белка, определяемого α -субъединицей. $G\alpha_i$ и $G\alpha_s$ являются, соответственно, ингибиторами и стимуляторами аденилатциклазы (AC), необходимой для синтеза цАМФ – вторичного мессенджера протеинкиназы А (РКА). $G\alpha_q$ -субъединица необходима для активации фосфолипазы С (PLC) и выработки вторичных посредников DAG и IP3. Мишенью DAG является РКС, а IP3 стимулирует высвобождение ионов кальция из внутриклеточного депо – ЭПР. $G\alpha_{12/13}$ активирует ГТФ-азу семейства Rho. Считается, что OX1R и OX2R ассоциированы с $G\alpha_i$, $G\alpha_s$ и $G\alpha_q$ субъединицами, в результате активации которых наблюдается увеличение внутриклеточной концентрации кальция через кальциевые каналы L-типа на мембране клетки и кальциевые каналы на мембране ЭПР [27].

Все GPCR характеризуются семью α -спиральными трансмембранными доменами и принадлежат к крупнейшему семейству рецепторов клеточной поверхности, кодируемыми более чем 800 генами в геноме человека, которые участвуют в основных патофизиологических процессах. Считается, что их основные физиологические эффекты опосредованы исключительно сигнальным путем G-белков, включая стимуляцию и/или ингибирование эффекторов (фосфолипазы С, протеинкиназ С и А и т.п.), десенсибилизацию и клеточную интернализацию [40, 42]. Классическая активация орексиновых рецепторов индуцирует переходные процессы в концентрации ионов кальция внутри клетки за счет повышения концентрации вторичного посредника IP3, и кроме того, вероятно, через приток ионов кальция в клетку через каналы транзитного

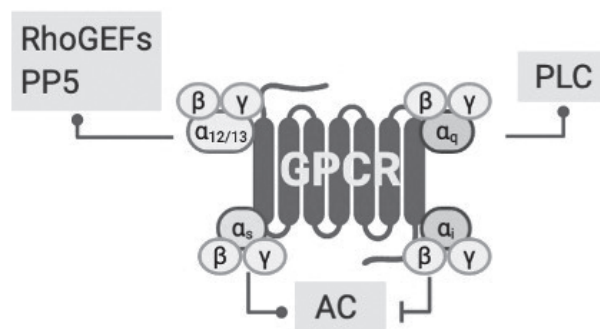


Рисунок 1. Пути передачи сигналов GPCR, согласно [27]

Примечание. Обозначения: GPCR – рецептор, связанный с G-белком; PLC – фосфолипаза С; AC – аденилатциклаза; PP5 – протеинфосфатаза 5; RhoGEFs – ГТФаза семейства Rho; α , β и γ – субъединицы G-белков.

Figure 1. GPCRs signaling pathways, according to [27]

Note. GPCR, G-protein coupled receptor; PLC, phospholipase C; AC, adenylate cyclase; PP5, protein phosphatase 5; RhoGEFs, GTPase of the Rho family; α , β and γ , G-proteins subunits.

типа TRPC-3 [39]. Однако помимо классической активации орексиновых рецепторов, другие сигнальные пути, такие как MAPK-Erk1/2, PI3K-Akt и JNK также участвуют в передаче сигналов от орексиновых рецепторов [27].

В настоящее время рассматривается гипотеза о том, что действие многих GPCRs также может быть опосредовано и другими механизмами трансдукции, что ведет к появлению у них новых патофизиологических эффектов. Среди таких новых «ролей» GPCRs часто рассматривается их избыточная или недостаточная экспрессия в опухолевых клетках, а также участие в инициации и/или прогрессировании опухолевых процессов путем ингибирования апоптоза или стимуляции пролиферации.

Поскольку классический G_q -опосредованный кальциевый сигналинг не объясняет апоптотическое действие орексинов и их рецепторов, предполагается, что механизм орексин-индуцированного апоптоза является оригинальным и еще не идентифицированным механизмом орексиновых GPCRs. Известно, что различные GPCRs, такие как рецептор NTS1 для нейротензина [31], активированные протеазой рецепторы тромбина или трипсина [12] или мускариновый рецептор M3 [18], способствуют повышению концентрации внутриклеточного кальция в клетках толстой кишки. Но эти рецепторы, в отличие от орексиновых, не только не вызывают апоптоза, но и стимулируют пролиферацию клеток.

Орексиновые рецепторы OX1R и OX2R имеют отличительную структурную особенность по сравнению с другими GPCRs. При анализе последовательности OX1R во внутриклеточном до-

мене, соединяющем седьмую трансмембранную спираль рецептора с его С-концом, обнаружен мотив, не свойственный GPCRs, но известный как иммунорецепторный мотив ингибирования на основе тирозина (ITIM) [17]. ITIM представляет собой отличительный признак иммуоингибирующих рецепторов на лимфоидных и миелоидных клетках, причем Fc-рецептор FcRII иммуноглобулина G (IgG) является прототипом таких рецепторов. ITIM рекрутирует либо белковые тирозинфосфатазы SHP1 и SHP2, либо инозитолфосфатазы SHIP1 и SHIP2 для опосредования негативной передачи сигналов. Замена центрального тирозина на фенилаланин в мотиве ITIM рекомбинантного OX1R, экспрессирующемся в клетках СНО, приводит к отсутствию орексин-индуцированного апоптоза, как было показано в работе Voisin и соавт. (2008) [55]. При этом мутация в ITIM, по-видимому, блокирует связывание OX1R с белком G_q. Ингибирование фосфолипазы С, обычно рекрутированной при классическом сигналинге орексиновых рецепторов, не отменяло апоптоз, вызванный орексином. По-видимому, орексин-индуцированный апоптоз зависит от взаимодействия OX1R с G_q, но не зависит от дальнейшей активации компонентов классического пути передачи сигнала через орексиновые рецепторы [55]. Дальнейшие исследования продемонстрировали, что последовательное ингибирование фосфотирозинфосфатазы SHP-2 и Src-киназы отменяет орексин-индуцированный апоптоз и фосфорилирование тирозина Y358 в ITIM-домене орексинового рецептора OX1R. Это свидетельствует о том, что фосфотирозинфосфатаза SHP-2 и дальнейшее фосфорилирование центрального тирозина Y358 в ITIM-домене OX1R играют ведущую роль в механизме орексин-индуцированного апоптоза [55].

Классический сигналинг и предполагаемый механизм альтернативного сигналинга орексинового рецептора OX1R представлен на рисунке 2.

В то же время, исходя из анализа существующих литературных данных, проапоптотические свойства орексинов и их рецепторов характерны не для всех типов опухолевых клеток, что может быть обусловлено активацией орексинами различных путей передачи сигналов.

Так, пролиферация клеток PANC1 под действием орексина А, продемонстрированная в работе Suo и соавт. (2018), вероятно, происходит в результате активации сигнального пути Akt/mTOR, что и обуславливает «уход» от апоптоза, рост и пролиферацию клеток. По мнению авторов, добавление в культуру клеток PANC1 орексина А вызывает активацию мишеней пути

Akt/mTOR и ингибирование апоптоза, регулируя активность белков Bcl-2, каспазы-9 и с-мус [49].

Кроме того, известно, что каналы эндоплазматического ретикулума IP3 играют важную роль в регуляции гибели и выживаемости клеток, контролируя транспорт кальция из ЭР в митохондрии через мембранные контакты MAMs (митохондриально-ассоциированные ЭР мембраны). Оптимальные уровни мобилизации ионов кальция в митохондрии необходимы для нормального протекания биоэнергетических процессов, тогда как избыточный поток ионов кальция в митохондрии вызывает нарушение целостности их мембран и апоптотическую гибель клеток. Белки Bcl-2, как известно, локализованы на наружной мембране митохондрий, однако они также расположены и в мембране ЭР, где регулируют проницаемость каналов IP3 и подавляют их активность, предотвращая поток ионов кальция в митохондрии и обеспечивая таким образом выживаемость опухолевых клеток [4]. Возможно, классический механизм передачи сигнала через орексиновые рецепторы также затрагивает модуляцию каналов IP3, в результате чего поток ионов кальция в митохондрии повышается и наблюдается апоптоз опухолевых клеток.

Активация сигнального пути Akt также рассматривается как один из механизмов пролиферации и ингибирования апоптоза опухолевых клеток желудка линии BGC-823 под действием орексина А. Добавление орексина А в концентрации 10 нМ приводит к повышению уровня фосфорилированной киназы Akt и 30%-ному снижению проапоптотической активности каспазы-3 [59].

По мнению той же группы авторов, пролиферация и ингибирование апоптоза в клетках рака желудка линии SGC-7901 при добавлении орексина А вызваны активацией сигнального пути ERK1/2. Интерес вызывает тот факт, что в клетках SGC-7901 не было обнаружено экспрессии мРНК рецептора OX1R, но при этом при добавлении орексина А в концентрациях от 0,1 нМ до 1 мкМ наблюдалось повышение пролиферации клеток, снижение активности каспазы-9 и увеличение уровня фосфорилированной киназы ERK1/2. Так как орексин А имеет примерно одинаковую аффинность к рецепторам OX1R и OX2R, возможно, что наблюдаемый эффект реализуется через OX2R, экспрессия которого в данной работе не изучалась. Передача сигнала по ERK-и Akt-путям, как правило, приводит к повышению выживаемости, пролиферации и увеличению подвижности клеток [30].

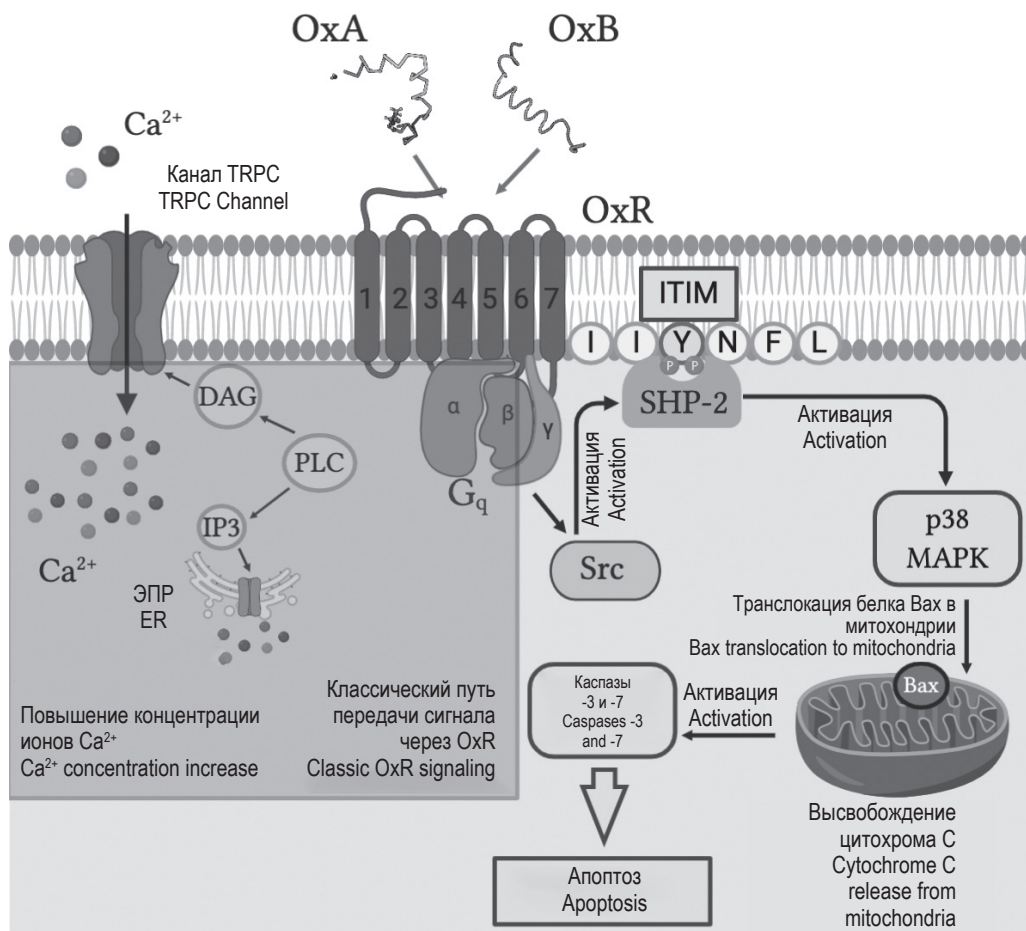


Рисунок 2. Классическая и альтернативная передача сигналов рецепторов орексина

Примечание. После активации OX1R орексинами домены ITIM фосфорилируются по остатку тирозина (Y). Классическая Gq-опосредованная активация фосфолипазы C (PLC) не участвует в этом процессе. Фосфорилирование тирозина в доменах ITIM приводит к опосредованному Src привлечению и активации фосфотирозинфосфатазы SHP-2. Дальнейшая передача сигнала от SHP-2 включает фосфорилирование p38 / MAPK, которое приводит к транслокации проапоптотического белка Bax в митохондрии, высвобождению цитохрома c из митохондрий, образованию апоптосом, активации каспазы-3 и каспазы-7 и последующей гибели клеток (по [62]).

Figure 2. Classical and alternative signaling of orexin receptors

Note. After OX1R activation by orexins, the ITIM domains are phosphorylated at the tyrosine residue (Y). Classical Gq-mediated phospholipase C (PLC) activation is not involved in this process. Phosphorylation of tyrosine in the ITIM domains results in Src kinase-mediated recruitment and activation of SHP-2 phosphotyrosine phosphatase. Further signal transduction from SHP-2 includes phosphorylation of p38 / MAPK, which leads to translocation of the pro-apoptotic Bax protein into mitochondria, release of cytochrome c from mitochondria, formation of apoptosomes, activation of caspase-3 and caspase-7, and subsequent cell death (according to [62]).

Однако в работе Wen и соавт. (2017), посвященной изучению влияния орексина А на аутофагию клеток линии НСТ-116, ERK-путь рассматривается в качестве запускающего процесс аутофагии. Орексин А значительно повышает фосфорилирование киназы ERK и последующую аутофагию клеток. Ингибирование ERK отменяло индуцированную орексином А аутофагию [59].

Кроме того, в работе Ammoun и соавт., посвященной изучению орексин-индуцированного апоптоза в рекомбинантных клетках яичника китайского хомячка CHO-OX1R, продемонстрировано значительное повышение фосфорилирования ERK под действием орексина А. По мнению

авторов, киназы PKC, PI3K, Ras, и Src участвуют в опосредованной орексином А активации фосфорилирования ERK [3]. Таким образом, вовлечение ERK-пути в механизмы эффектов орексина на клетки неоднозначно, и необходимы дальнейшие исследования для выяснения точной роли различных сигнальных путей в механизмах как орексин-индуцированной гибели, так и орексин-индуцированной пролиферации клеток различных типов опухолей.

Заключение

Анализ комплекса литературных данных демонстрирует высокий интерес исследователей

к изучению эффектов действия орексинов на процесс апоптоза опухолевых клеток. Особого внимания заслуживает установление факта экспрессии рецепторов к орексинам на мембранах опухолевых клеток различных типов и органов, поскольку главным механизмом восприятия действия орексинов является рецепторный. С другой стороны, рецепторы к этим пептидам не представлены в немалигнизированных клетках большинства органов, но не всех.

Исследования эффектов действия орексинов на процесс апоптоза проведены, в основном, на клетках различных опухолей в культуре. В большинстве работ обнаружена активация процесса апоптоза и ускорение гибели клеток, 40-80% которых погибают. Примечательно, что при ксенотрансплантации опухолевых клеток мышам линии Nude и последующем введении животным орексина А происходит снижение роста опухоли на 80%. Важно подчеркнуть, что при изучении противоопухолевого действия орексинов, пептид применяли в концентрациях на 3 и даже 6 порядков выше (нМ и мкМ), чем концентрация базального циркулирующего в крови орексина (по разным данным, от 2 до 45 пМ), которая в 1000 раз меньше, чем IC50 рецепторов к орексинам, оцененная в несколько десятков нМ, что, вероятно, объясняет использование наномолярных и микромолярных концентраций орексина в экспериментах. Вместе с тем концентрация орексина *in situ* в пресинаптических окончаниях варьирует от 10 до 1000 нМ [61], что соответствует использованным в экспериментах концентрациям орексина.

Наблюдаемый под действием орексина эффект Voisin и соавт. назвали орексин-индуцированным апоптозом и предложили для его объяснения механизм, основанный на свойствах орексиновых рецепторов, обусловленных особенностями их структуры. Структурные отличия рецепторов OX1R и OX2R от других GPCRs заключаются в наличии особого домена ITIM, фосфорилирование которого вызывает активацию ферментов Src и SHP и дальнейшую активацию пути p38/MAPK и каспаз, что приводит к апоптозу. Результаты подтверждают, что ингибирование различных звеньев этой цепи приводит к отмене проапоптотического эффекта орексинов [17, 56].

Изучены эффекты действия орексинов на клетки толстого кишечника, желудка, печени,

поджелудочной и предстательной желез, надпочечников, эндометрия и шейки матки, ряда нервных и глиальных клеток в культуре, на мембранах которых экспрессируются рецепторы к орексинам.

Однако ряд исследователей не наблюдали такого эффекта, показана возможность активации роста клеток при высшей концентрации орексина, что подчеркивает необходимость развития этой линии исследования.

Следует отметить, что большинство исследователей изучали эффект орексина А, но не орексина В. Возможно, это вызвано тем, что орексин А более «универсален»: он имеет одинаковое сродство к обоим рецепторам орексина – OX1R и OX2R, в то время как орексин В избирательно связывается с OX2R [19].

Наименее исследованы противоопухолевые эффекты орексинов при раке печени и коркового и мозгового вещества надпочечников. В клетках нейробластомы и глиомы орексин индуцирует апоптоз [6, 45], что особенно важно, поскольку эти опухоли практически инкурабельны.

Среди механизмов реализации эффектов орексина на малигнизацию клетки – активация сигнального пути Akt/mTOR и последующее повышение активации ERK-пути, ведущее к повышению пролиферации и уходу от апоптоза [30, 60]. Но результаты различных исследований по этому поводу достаточно противоречивы [3, 30, 59], что обуславливает необходимость их продолжения.

Известно, что орексинергическая система участвует в регуляции многих физиологических процессов, что обеспечивается множеством проекций орексинергических нейронов в различные области мозга. Периферическое действие орексинов зачастую опосредованно другими нейромедиаторными системами, однако, как следует из представленных работ, эти нейропептиды оказывают влияние и на процесс апоптоза опухолевых клеток *in vitro* и *in vivo*.

Эта линия исследований представляется высокоперспективной, но требующей дальнейшего и интенсивного развития, поскольку, несмотря на очевидный прогресс, возможности лечения опухолей в настоящее время весьма ограничены и разработка новых, достаточно эффективных способов терапии, даже некоторых из них, высоко актуальна.

Список литературы / References

1. Перекрест С.В., Новикова Н.С., Корнева Е.А. Система орексин-содержащих нейронов гипоталамуса и их участие в механизмах реализации реакций мозга на антигенный стимул // Вестник Санкт-Петербургского университета, 2010. № 3. С. 173-187. [Perekrest S.V., Novikova N.S., Korneva E.A. The system of

orexin-containing neurons of the hypothalamus and their participation in the mechanisms of the implementation of brain reactions to antigenic stimulus. *Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta = Bulletin of St. Petersburg University*, 2010, no. 3, pp. 173-187. (In Russ.)]

2. Alexandre D., Hautot C., Mehio M., Jeandel L., Courel M., Voisin T., Couvineau A., Gobet F., Leprince J., Pfister C., Anouar Y., Chartrel N. The orexin type 1 receptor is overexpressed in advanced prostate cancer with a neuroendocrine differentiation, and mediates apoptosis. *Eur. J. Cancer*, 2014, no. 50, pp. 2126-2133.

3. Ammoun S., Johansson L., Ekholm M.E., Holmqvist T., Danis A.S., Korhonen L., Sergeeva O.A., Haas H.L., Akerman K.E.O., Kukkonen J.P. OX1 orexin receptors activate extracellular signal-regulated kinase in Chinese hamster ovary cells via multiple mechanisms: the role of Ca²⁺ influx in OX1 receptor signaling. *Mol. Endocrinol.*, 2006, Vol. 20, no. 1, pp. 80-99.

4. Ando H., Kawaai K., Bonneau B., Mikoshiba K. Remodeling of Ca²⁺ signaling in cancer: Regulation of inositol 1,4,5-trisphosphate receptors through oncogenes and tumor suppressors. *Adv. Biol. Regul.*, 2018, Vol. 68, pp. 64-76.

5. Arihara Z., Takahashi K., Murakami O., Totsune K., Sone M., Satoh F., Ito S., Hayashi Y., Sasano H., Mouri T. Orexin-A in the human brain and tumor tissues of ganglioneuroblastoma and neuroblastoma. *Peptides*, 2001, Vol. 21, no. 4, pp. 565-570.

6. Bader J.E., Deckert C.M., Koglin N., Pluder F., Mörl K., Koczan D., Thiesen H.-J., Beck-Sickingher A.G. From transcription profile to expression: the signaling repertoire of the SK-N-MC neuroepithelioma cell-line. *J. Recept. Signal Transduct. Res.*, Vol. 24, no. 4, pp. 257-282.

7. Biegańska K., Sokołowska P., Jöhren, O., Zawilska J.B. Orexin A suppresses the growth of rat C6 glioma cells via a caspase-dependent mechanism. *J. Mol. Neurosci.*, 2012, Vol. 48, no. 3, pp. 706-712.

8. Blanco M., García-Caballero T., Fraga M., Gallego R., Cuevas J., Forteza J., Beiras A., Diéguez C. Cellular localization of orexin receptors in human adrenal gland, adrenocortical adenomas and pheochromocytomas. *Regul. Pept.*, Vol. 104, pp. 161-165.

9. Brenet F., Moh M., Funk P., Feierstein E., Viale A.J., Socci, N.D., Scandura J.M. DNA methylation of the first exon is tightly linked to transcriptional silencing. *PLoS One*, 2011, Vol. 6, no. 1, e14524. doi: 10.1371/journal.pone.0014524.

10. Chang X., Zhao Y., Ju S., Guo L. Orexin-A regulates cell apoptosis in human H295R adrenocortical cells via orexin receptor type 1 through the AKT signaling pathway. *Mol. Med. Rep.*, 2015, Vol. 12, no. 5, pp. 7582-7588.

11. Dai C., Heemers H., Sharifi N. Androgen signaling in prostate cancer. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.*, 2017, Vol. 7, no. 9, a030452. doi: 10.1101/cshperspect.a030452.

12. Darmoul D., Gratio V., Devaud H., Peiretti F., Laburthe M. Activation of proteinase-activated receptor 1 promotes human colon cancer cell proliferation through epidermal growth factor receptor transactivation. *Mol. Cancer Res.*, 2004, Vol. 2, no. 9, pp. 514-522.

13. Dayot S., Speisky D., Couvelard A., Bourgoin P., Gratio V., Cros J., Rebours V., Sauvanet A., Bedossa P., Paradis V., Ruszniewski P., Couvineau A., Voisin T. *In vitro*, *in vivo* and *ex vivo* demonstration of the antitumoral role of hypocretin-1/orexin-A and almorexant in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Oncotarget*, 2018, Vol. 9, no. 6, pp. 6952-6967.

14. de Lecea L., Kilduff T.S., Peyron C., Gao X.-B., Foye P.E., Danielson P.E., Fukuhara C., Battenberg E.L.F., Gautvik V.T., Bartlett F.S., Frankel W.N., van den Pol A.N., Bloom F.E., Gautvik K.M., Sutcliffe J.G. The hypocretins: Hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 1998, Vol. 95, no. 1, pp. 322-327.

15. Dehan P., Canon C., Trooskens G., Rehli M., Munaut C., van Criekinge W., Delvenne P. Expression of type 2 orexin receptor in human endometrium and its epigenetic silencing in endometrial cancer. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2013, Vol. 98, no. 4, pp. 1549-1557.

16. Duffy C., Nixon J., Butterick T. Orexin A attenuates palmitic acid-induced hypothalamic cell death. *Mol. Cell. Neurosci.*, 2016, Vol. 75, pp. 93-100.

17. El Firar A., Voisin T., Rouyer-Fessard C., Ostuni M.A., Couvineau A., Laburthe M. Discovery of a functional immunoreceptor tyrosine-based switch motif in a 7-transmembrane-spanning receptor: role in the orexin receptor OX1R-driven apoptosis. *FASEB J.*, 2009, Vol. 23, no. 12, pp. 4069-4080.

18. Frucht H., Jensen R.T., Dexter D., Yang W.L., Xiao Y. Human colon cancer cell proliferation mediated by the M3 muscarinic cholinergic receptor. *Clin. Cancer Res.*, 1999, Vol. 5, pp. 2532-2539.

19. Graybill N.L., Weissig V. A review of orexin's unprecedented potential as a novel, highly-specific treatment for various localized and metastatic cancers. *SAGE Open Med.*, 2017, Vol. 5, pp. 1-9.

20. Grothey A., Sargent D., Goldberg R.M., Schmoll H.-J. Survival of patients with advanced colorectal cancer improves with the availability of fluorouracil-leucovorin, irinotecan, and oxaliplatin in the course of treatment. *J. Clin. Oncol.*, 2004, Vol. 22, no. 7, pp. 1209-1214.

21. Hu S., Niu J., Zhang R., Li X., Luo M., Sang T., Guo J., Liu J., Ding X., Li X., Ma Y., Gao R. Orexin A associates with inflammation by interacting with OX1R/OX2R receptor and activating prepro-Orexin in cancer tissues of gastric cancer patients. *Gastroenterol. Hepatol.*, 2020, Vol. 43, no. 5, pp. 240-247.

22. James M.H., Mahler S.V., Moorman D.E., Aston-Jones G. A Decade of orexin/hypocretin and addiction: where are we now? *Curr. Top. Behav. Neurosci.*, 2017, Vol. 33, pp. 247-281.
23. Jöhren O., Neidert S.J., Kummer M., Dendorfer A., Dominiak P. Prepro-orexin and orexin receptor mRNAs are differentially expressed in peripheral tissues of male and female rats. *Endocrinology*, 2001, Vol. 142, no. 8, pp. 3324-3331.
24. Kagerer S.M., Jöhren O. Interactions of orexins/hypocretins with adrenocortical functions. *Acta Physiol. (Oxf.)*, 2010, Vol. 198, no. 3, pp. 361-371.
25. Kirchgessner A.L., Liu M. Orexin synthesis and response in the gut. *Neuron*, 1999, Vol. 24, no. 4, pp. 941-951.
26. Kregel S., Bagamasbad P., He S., LaPensee E., Raji Y., Brogley M., Chinnaiyan A., Cieslik M., Robins D.M. Differential modulation of the androgen receptor for prostate cancer therapy depends on the DNA response element. *Nucleic Acids Res.*, 2020, Vol. 48, no. 9, pp. 4741-4755.
27. Kukkonen J.P., Leonard C.S. Orexin/hypocretin receptor signalling cascades. *Br. J. Pharmacol.*, 2014, Vol. 171, no. 2, pp. 314-331.
28. Li S.-B., de Lecea L. The hypocretin (orexin) system: from a neural circuitry perspective. *Neuropharmacology*, 2020, Vol. 167, 107993. doi: 10.1016/j.neuropharm.2020.107993.
29. Liu Y., Zhao Y., Guo L. Effects of orexin A on glucose metabolism in human hepatocellular carcinoma *in vitro* via PI3K/Akt/mTOR-dependent and -independent mechanism. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 2016, Vol. 420, pp. 208-216.
30. Liu Y., Zhao Y., Ju S., Guo L. Orexin A upregulates the protein expression of OX1R and enhances the proliferation of SGC-7901 gastric cancer cells through the ERK signaling pathway. *Int. J. Mol. Med.*, 2015, Vol. 35, no. 2, pp. 539-545.
31. Maoret J.J., Pospai D., Rouyer-Fessard C., Couvineau A., Laboissee C., Voisin T., Laburthe M. Neurotensin receptor and its mRNA are expressed in many human colon cancer cell lines but not in normal colonic epithelium: binding studies and RT-PCR experiments. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, Vol. 203, no. 1, pp. 465-471.
32. Mazzocchi G., Malendowicz L.K., Aragona F., Rebuffat P., Gottardo L., Nussdorfer G.G. Human pheochromocytomas express orexin receptor type 2 gene and display an *in vitro* secretory response to orexins A and B. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2001, Vol. 86, no. 10, pp. 4818-4821.
33. Nagasaka T., Goel A., Notohara K., Takahata T., Sasamoto H., Uchida T., Nishida N., Tanaka N., Boland C.R., Matsubara N. Methylation pattern of the O6-methylguanine-DNA methyltransferase gene in colon during progressive colorectal tumorigenesis. *Int. J. Cancer*, 2008, Vol. 122, no. 11, pp. 2429-2436.
34. Nakabayashi M., Suzuki T., Takahashi K., Totsune K., Muramatsu Y., Kaneko C., Date F., Takeyama J., Darnel A.D., Moriya T., Sasano H. Orexin-A expression in human peripheral tissues. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 2003, Vol. 205, no. 1-2, pp. 43-50.
35. Nicole P., Couvineau P., Jamin N., Voisin T., Couvineau A. Crucial role of the orexin-B C-terminus in the induction of OX1 receptor-mediated apoptosis: analysis by alanine scanning, molecular modelling and site-directed mutagenesis. *Br. J. Pharmacol.*, 2015, Vol. 172, no. 21, pp. 5211-5223.
36. Nixon J.P., Mavanji V., Butterick T.A., Billington C.J., Kotz C.M., Teske J.A. Sleep disorders, obesity, and aging: the role of orexin. *Ageing Res. Rev.*, 2015, Vol. 20, pp. 63-73.
37. Nokura K., Kanbayashi T., Ozeki T., Koga H., Zettsu T., Yamamoto H., Ozaki N., Shimizu T., Kawase T. Hypersomnia, asterixis and cataplexy in association with orexin A-reduced hypothalamic tumor. *J. Neurol.*, 2004, Vol. 251, no. 12, pp. 1534-1535.
38. Nurmio M., Tena-Sempere M., Toppari J. Orexins and the regulation of the hypothalamic-pituitary-testicular axis. *Acta Physiol. (Oxf.)*, 2010, Vol. 198, no. 3, pp. 349-354.
39. Peltonen H.M., Magga J.M., Bart G., Turunen P.M., Antikainen M.S.H., Kukkonen J.P., Akerman K.E. Involvement of TRPC3 channels in calcium oscillations mediated by OX(1) orexin receptors. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2009, Vol. 385, no. 3, pp. 408-412.
40. Peterson Y.K., Luttrell L.M. The diverse roles of arrestin scaffolds in G protein-coupled receptor signaling. *Pharmacol. Rev.*, 2017, Vol. 69, no. 3, pp. 256-297.
41. Peyron C., Kilduff T.S. Mapping the hypocretin/orexin neuronal system: an unexpectedly productive journey. *J. Neurosci.*, 2017, Vol. 37, no. 9, pp. 2268-2272.
42. Rajagopal S., Shenoy S.K. GPCR desensitization: Acute and prolonged phases. *Cell. Signal.*, 2018, Vol. 41, pp. 9-16.
43. Randeva H.S., Karteris E., Grammatopoulos D., Hillhouse E.W. Expression of orexin-A and functional orexin type 2 receptors in the human adult adrenals: implications for adrenal function and energy homeostasis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2001, Vol. 86, no. 10, pp. 4808-4813.
44. Rosenbaum D.M., Rasmussen S.G.F., Kobilka B.K. The structure and function of G-protein-coupled receptors. *Nature*, 2009, Vol. 459, no. 7245, pp. 356-363.
45. Rouet-Benzineb P., Rouyer-Fessard C., Jarry A., Avondo V., Pouzet C., Yanagisawa M., Laboissee C., Laburthe M., Voisin T. Orexins acting at native OX(1) receptor in colon cancer and neuroblastoma cells or at

recombinant OX(1) receptor suppress cell growth by inducing apoptosis. *J. Biol. Chem.*, 2004, Vol. 279, no. 44, pp. 45875-45886.

46. Russell S.H., Small C.J., Dakin C.L., Abbott C.R., Morgan D.G., Ghatei M.A., Bloom S.R. The central effects of orexin-A in the hypothalamic-pituitary-adrenal axis *in vivo* and *in vitro* in male rats. *J. Neuroendocrinol.*, 2001, Vol. 13, no. 6, pp. 561-566.

47. Sakurai S., Nishijima T., Takahashi S., Yamauchi K., Arihara Z., Takahashi K. Clinical significance of daytime plasma orexin-A-like immunoreactivity concentrations in patients with obstructive sleep apnea hypopnea syndrome. *Respiration*, 2004, Vol. 71, no. 4, pp. 380-384.

48. Sakurai T., Amemiya A., Ishii M., Matsuzaki I., Chemelli R.M., Tanaka H., Williams S.C., Richardson J.A., Kozlowski G.P., Wilson S., Arch J.R., Buckingham R.E., Haynes A.C., Carr S.A., Annan R.S., McNulty D.E., Liu W.S., Terrett J.A., Elshourbagy N.A., Bergsma D.J., Yanagisawa M. Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell*, 1998, Vol. 92, no. 5, pp. 573-585.

49. Suo L., Chang X., Zhao Y. The Orexin-A-Regulated Akt/mTOR pathway promotes cell proliferation through inhibiting apoptosis in pancreatic cancer cells. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*, 2018, Vol. 9, 647. doi: 10.3389/fendo.2018.00647.

50. Szyszka M., Paschke L., Tyczewska M., Rucinski M., Grabowska P., Malendowicz L.K. Lack of expression of preproorexin and orexin receptors genes in human normal and prostate cancer cell lines. *Folia Histochem. Cytobiol.*, 2015, Vol. 53, no. 4, pp. 333-341.

51. Taximaimaiti R., Abuliken X., Maihemuti M., Abudujilile D., Abudulimu H. Elevated Expression of Ox2R in cervical cancers and placentas of uyghur women in Xinjiang, China. *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, 2016, Vol. 17, no. 11, pp. 4959-4963.

52. Uo T., Plymate S.R., Sprenger C.C. Allosteric alterations in the androgen receptor and activity in prostate cancer. *Endocr. Relat. Cancer*, 2017, Vol. 24, no. 9, pp. R335-R348.

53. Valiante S., Liguori G., Tafuri S., Pavone L.M., Campese R., Monaco R., Iachetta G., Assisi L., Mirabella N., Forte M., Costagliola A., Vittoria A. Expression and potential role of the peptide orexin-A in prostate cancer. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2015, Vol. 464, no. 4, pp. 1290-1296.

54. Voisin T., El Firar A., Fasseu M., Rouyer-Fessard C., Descatoire V., Walker F., Paradis V., Bedossa P., Henin D., Lehy T., Laburthe M. Aberrant expression of OX1 receptors for orexins in colon cancers and liver metastases: an openable gate to apoptosis. *Cancer Res.*, 2011, Vol. 71, no. 9, pp. 3341-3351.

55. Voisin T., El Firar A., Rouyer-Fessard C., Gratio V., Laburthe M. A hallmark of immunoreceptor, the tyrosine-based inhibitory motif ITIM, is present in the G protein-coupled receptor OX1R for orexins and drives apoptosis: a novel mechanism. *FASEB J.*, 2008, Vol. 22, no. 6, pp. 1993-2002.

56. Wadosky K.M., Koochekpour S. Androgen receptor splice variants and prostate cancer: From bench to bedside. *Oncotarget*, 2017, Vol. 8, no. 11, pp. 18550-18576.

57. Wan X., Liu Y., Zhao Y., Sun X., Fan D., Guo L. Orexin A affects HepG2 human hepatocellular carcinoma cells glucose metabolism via HIF-1 α -dependent and -independent mechanism. *PLoS One*, 2017, Vol. 12, no. 9, e0184213. doi: 10.1371/journal.pone.0184213.

58. Wen J., Zhao Y., Guo L. Orexin A induces autophagy in HCT-116 human colon cancer cells through the ERK signaling pathway. *Int. J. Mol. Med.*, 2016, Vol. 37, no. 1, pp. 126-132.

59. Wen J., Zhao Y., Shen Y., Guo L. Effect of orexin A on apoptosis in BGC-823 gastric cancer cells via OX1R through the AKT signaling pathway. *Mol. Med. Rep.*, 2015, Vol. 11, pp. 3439-3444.

60. Wieland H.A., Söll R.M., Doods H.N., Stenkamp D., Hurnaus R., Lämmle B., Beck-Sickingering A.G. The SK-N-MC cell line expresses an orexin binding site different from recombinant orexin 1-type receptor. *Eur. J. Biochem.*, 2002, Vol. 269, no. 4, pp. 1128-1135.

61. Xu T.R., Yang Y., Ward R., Gao L., Liu Y. Orexin receptors: multi-functional therapeutic targets for sleeping disorders, eating disorders, drug addiction, cancers and other physiological disorders. *Cell. Signal.*, 2013, Vol. 25, no. 12, pp. 2413-2423.

62. Zhang J., Shu Q., Ma W., Lei Y., Zhou D. Orexin-A promotes Glu uptake by OX1R/PKC α /ERK1/2/GLT-1 pathway in astrocytes and protects co-cultured astrocytes and neurons against apoptosis in anoxia/hypoglycemic injury *in vitro*. *Mol. Cell. Biochem.*, 2017, Vol. 425, no. 1-2, pp. 103-112.

Авторы:

Дятлова А.С. — младший научный сотрудник
отдела общей патологии и патофизиологии ФГБНУ
«Институт экспериментальной медицины», Санкт-
Петербург, Россия

Authors:

Diatlova A.S., Junior Research Associate, Department of
General Pathology and Pathological Physiology, Institute of
Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

Новикова Н.С. — к.б.н., старший научный сотрудник
отдела общей патологии и патофизиологии ФГБНУ
«Институт экспериментальной медицины», Санкт-
Петербург, Россия

Деревцова К.З. — к.б.н., старший научный сотрудник
отдела общей патологии и патофизиологии ФГБНУ
«Институт экспериментальной медицины», Санкт-
Петербург, Россия

Корнева Е.А. — д.м.н., профессор, академик
РАН, главный научный сотрудник отдела общей
патологии и патофизиологии ФГБНУ «Институт
экспериментальной медицины», Санкт-Петербург,
Россия

Novikova N.S., PhD (Biology), Senior Research Associate,
Department of General Pathology and Pathological Physiology,
Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian
Federation

Derevtsova K.Z., PhD (Biology), Senior Research Associate,
Department of General Pathology and Pathological Physiology,
Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian
Federation

Korneva E.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Full Member,
Russian Academy of Sciences, Main Research Associate,
Department of General Pathology and Pathological Physiology,
Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian
Federation

Поступила 14.07.2020
Отправлена на доработку 19.07.2020
Принята к печати 24.08.2020

Received 14.07.2020
Revision received 19.07.2020
Accepted 24.08.2020