

DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-2-29-39



Роль оксида азота и эндотелиальной NO-синтазы в канцерогенезе

В.П. Дерягина¹, Н.И. Рыжова¹, Л.А. Савлучинская¹, К.И. Кирсанов^{1,2}

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24;

²ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Россия, 117198 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6

Контакты: Валентина Петровна Дерягина derygina@inbox.ru

Введение. Оксид азота (NO), продуцируемый NO-синтазами (NOS), участвует в регуляции гомеостаза целого ряда жизненно важных систем организма. В то же время NO и NOS вовлечены в связанные с канцерогенезом процессы, такие как мутагенез, регуляция пролиферации, апоптоза, ангиогенеза, и могут оказывать на опухоль разнонаправленное действие.

Цель исследования – проанализировать и обобщить данные литературы, касающиеся роли NO и эндотелиальной NOS (eNOS) в инициации и прогрессии опухолей, а также в ингибировании опухолевого роста.

Материалы и методы. При подготовке обзора были использованы публикации информационных баз биомедицинской литературы: SciVerse Scopus (538), PubMed (1327), Web of Science (905), Российский индекс научного цитирования (125).

Результаты. Изучены молекулярные механизмы действия NO и его производных на инициацию и прогрессию канцерогенеза. Проанализированы многочисленные факторы и условия, регулирующие активность eNOS в норме и при опухолевом росте. Рассмотрены кальций- и аргинин-зависимые пути регуляции активности фермента, а также возможности его регуляции антиканцерогенными полифенолами. Проведен анализ молекулярных сигнальных путей, посредством которых реализуются проопухолевые эффекты NO и eNOS, стимулирующие ангиогенез и лимфангиогенез.

Заключение. Оксид азота, продуцируемый гиперактивированной eNOS, способствует прогрессии опухолей, усиливает действие проангиогенных факторов, стимулирует ангиогенез, лимфангиогенез и метастазирование. Селективное ингибирование повышенной активности eNOS может стать перспективным терапевтическим подходом, направленным на торможение роста опухоли и ее метастазирования.

Ключевые слова: оксид азота, эндотелиальная синтаза оксида азота, канцерогенез, ангиогенез, лимфангиогенез, опухоли

Для цитирования: Дерягина В.П., Рыжова Н.И., Савлучинская Л.А., Кирсанов К.И. Роль оксида азота и эндотелиальной NO-синтазы в канцерогенезе. Успехи молекулярной онкологии 2021;8(2):29–39. DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-2-29-39.

Role of nitric oxide and endothelial NO synthase in carcinogenesis

V.P. Deryagina¹, N.I. Rizhova¹, L.A. Savluchinskaya¹, K.I. Kirsanov^{1,2}

¹N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia;

²Peoples' Friendship University of Russia; 6 Miklukho-Maklaya St., Moscow 117198, Russia

Contacts: Valentina Petrovna Deryagina derygina@inbox.ru

Introduction. Nitric oxide (NO) produced by NO synthases (NOS) is involved in the regulation of vital physiological functions. At the same time, NO and NOS are involved in events associated with the tumor process: mutagenesis, proliferation, apoptosis, angiogenesis, etc., exerting a multidirectional effect on the tumor.

Objectives – analyze and summarize literature data concerning the role of NO and endothelial NOS (eNOS) in the initiation and progression of tumors, as well as in the inhibition of tumor growth.

Materials and methods. In preparing the review, publications of information bases of biomedical literature were used: SciVerse Scopus (538), PubMed (1327), Web of Science (905), Russian Science Citation Index (125).

Results. The molecular mechanisms of the action of NO and its derivatives on the initiation and progression of carcinogenesis have been explored. Numerous factors and conditions regulating the activity of eNOS in health and tumor growth

have been analyzed. The molecular signaling pathways through which the pro-tumor effects of NO and eNOS, stimulating angiogenesis, lymphangiogenesis, are realized, including through the mobilization of stem cells, are considered.

Conclusion. Nitric oxide produced by activated eNOS promotes tumor progression by increasing the proliferation of tumor cells, enhancing the action of pro-angiogenic factors, stimulating angiogenesis, lymphangiogenesis, and metastasis. Selective inhibition of increased eNOS activity may be a promising therapeutic approach aimed at reducing metastasis and tumor growth.

Key words: nitric oxide, endothelial nitric oxide synthase carcinogenesis, angiogenesis, lymphangiogenesis, tumors

For citation: Deryagina V.P., Rizhova N.I., Savluchinskaya L.A., Kirsanov K.I. Role of nitric oxide and endothelial NO synthase in carcinogenesis. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2021;8(2):29–39. (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-2-29-39.

ВВЕДЕНИЕ

Оксид азота (NO), генерируемый эндотелиальной NO-синтазой (eNOS), участвует в регуляции гомеостаза сердечно-сосудистой, дыхательной, пищеварительной, мочеполовой и других систем. В то же время NO и NOS вовлечены в инициацию и прогрессию опухолей и оказывают на клетки разнонаправленное действие. Повышение экспрессии eNOS часто регистрируют как в опухолевых, так и в стромальных клетках при злокачественных новообразованиях молочной железы, мочевого пузыря, толстой кишки, центральной нервной системы и др. [1–4]. В зависимости от концентрации NO, продолжительности экспозиции клеток к NO и особенностей микроокружения эффекты NO и его активных производных могут различаться и как способствовать, так и препятствовать канцерогенезу [2]. К настоящему моменту опубликовано достаточно большое количество работ, посвященных изучению влияния NO и eNOS на ангиогенез, лимфангиогенез и в целом на канцерогенез, а также на выявление молекулярных механизмов действия NO и факторов, регулирующих активность eNOS. Представленный обзор посвящен анализу, систематизации и обобщению этих данных.

СИНТЕЗ ОКСИДА АЗОТА И ЕГО ДЕПОНИРОВАНИЕ

Оксид азота, синтезируемый эндогенно, является эндотелиальным фактором релаксации и обнаруживается практически во всех тканях организма. Синтез NO у млекопитающих осуществляется NOS: нейрональной, индуцибельной (iNOS), eNOS и митохондриальной, которая идентифицируется как α -изоформа нейрональной NOS. Субстратом для всех изоформ NOS являются L-аргинин и молекулы кислорода, а в качестве косубстрата выступает NADPH (никотинамидадениндинуклеотидфосфат).

Кофакторами всех изоформ фермента служат: FAD (флавинадениндинуклеотид), FMN (флавиномононуклеотид) и BH₄ (тетрагидробиоптерин) (рис. 1). Синтез NO происходит в 2 этапа: сначала NOS гидроксимирует L-аргинин до N^ω-гидрокси-L-аргинина, а затем окисляет N^ω-гидрокси-L-аргинин до L-цитруллина и NO. Хотя все изоформы NOS катализируют образование NO, каждая из них имеет особенности как в ло-

кализации, скорости катализа и механизмах регуляции, так и в биологическом значении для организма. Активность конститутивной формы eNOS зависит от концентрации Ca²⁺ в цитоплазме, наличия кофакторов и регулируется фосфорилированием фермента [5, 6]. При недостатке кофактора фермента BH₄, изменении соотношения тетрагидробиоптерин (BH₄)/дигидробиоптерин (BH₂) или гипоксии eNOS продуцирует активные формы кислорода (супероксид-анион, пероксид водорода, пероксинитрит). Показано, что в клетках некоторых опухолей продуктами осуществляемых eNOS реакций преимущественно являются супероксид-анион и пероксинитрит [7]. Активность eNOS регулируется NO по механизму отрицательной обратной связи: NO обратимо ингибирует активность фермента за счет связывания с железом гема [8].

Формирование депо NO – это важная часть адаптивных реакций. Основными формами депонирования и транспорта NO являются S-нитрозотиолы и динитрозильные комплексы железа [9–11]. S-нитрозотиолы способны переносить NO между клетками и с SH-группами белков. Передача сигналов NO в основном осуществляется с помощью S-нитрозилирования тиольной группы цистеина более чем 3000 белков. Денитрозилирование катализируется ферментами GSNOR (S-нитрозоглутатионредуктазой) и Txh (тиоредоксином), которые защищают клетки и ткани млекопитающих от нитрозативного стресса [12]. Нарушение регуляции S-нитрозилирования наблюдается при развитии ряда патологий, включая рак [13].

ОКСИД АЗОТА В КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ

Оксид азота, помимо радикальной формы (NO[•], далее NO), может существовать в виде ионов нитрозония (NO⁺) или нитроксила (NO⁻), что зависит от условий микроокружения. Это объясняет, почему биологический ответ клеток на действие экзогенного NO в большой степени зависит от гистотипа клеток, внутриклеточной локализации NOS, концентрации NO и продолжительности экспозиции клеток к его действию. Концентрация NO в нормальных тканях может варьировать от наномолярных до микромолярных значений. В частности, она повышается при воспалении [2, 16, 17]. В низких концентрациях NO проявляет антиоксидантные свойства, взаимодействуя с активными

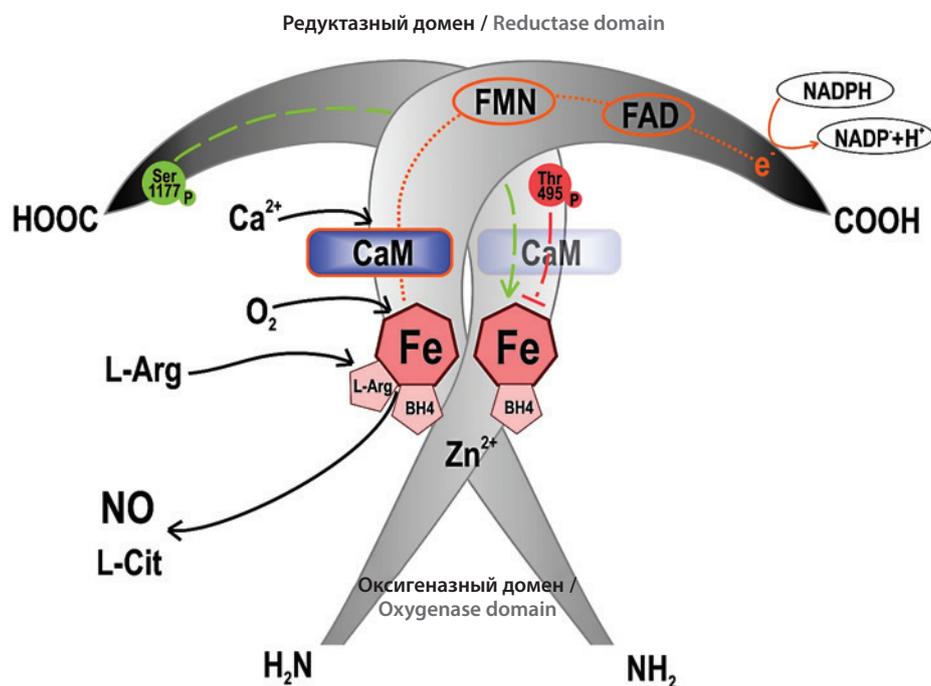


Рис. 1. Структурная организация и функционирование эндотелиальной синтазы оксида азота, которая состоит из N-концевого оксигеназного домена, содержащего сайты связывания для тетрагидробиоптерина (BH4), Zn^{2+} , гема и L-аргинина, а также C-концевого редуктазного домена, содержащего сайты связывания для восстановленного никотинамидадениндинуклеотидфосфата (NADPH), флавинадениндинуклеотида (FAD) и флавинмононуклеотида (FMN). Оксигеназный и редуктазный домены разделены линкерной областью, в которой находится регуляторный домен связывания кальмодулина (CaM). Гомодимерный комплекс эндотелиальной синтазы оксида азота синтезирует оксид азота из L-аргинина и O_2 посредством NADPH-зависимого потока электронов от C-концевого домена к оксигеназному домену. Одним из способов регуляции фермента является фосфорилирование/дефосфорилирование остатков аминокислот фермента. Фосфорилирование по Ser1177 приводит к активации фермента, а по Thr495 – к его ингибированию

Fig. 1. Structural organization and the functioning of endothelial nitric oxide synthase, which consists of an N-terminal oxygenase domain containing binding sites for tetrahydrobiopterin (BH4), Zn^{2+} , heme, and L-arginine; as well as a C-terminal reductase domain containing binding sites for reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH), flavin adenine dinucleotide (FAD) and flavin mononucleotide (FMN). The oxygenase and reductase domains are separated by a linker region, which contains the calmodulin binding domain (CaM). The homodimeric eNOS complex synthesizes NO from L-arginine and O_2 via NADPH-dependent electron flux from the C-terminal domain to the oxygenase domain. Phosphorylation at Ser1177 activates eNOS, while phosphorylation at Thr495 leads to its inhibition

формами кислорода и нивелируя их токсическое действие [16]. В низких физиологических концентрациях оксид NO подавляет запуск апоптоза, вызывая гиперэкспрессию антиапоптотических белков Bcl-2 и Bcl-X_L и ингибирование каспаз [17, 18]. Высокие концентрации NO, продуцируемые иммунными или опухолевыми клетками, приводят к образованию активных производных NO (N_2O_3 , $ONNO^-$, NO_2 , NO_2^- и др.), которые вызывают повреждение ДНК, непосредственно взаимодействуя с макромолекулой. Кроме того, активные производные NO могут инактивировать белки репарации ДНК и служить источником генотоксичных нитрозамин (R1R2N-NO) [19, 20]. Оксид азота и его производные способны снижать активность ДНК-лигазы, что может приводить к увеличению числа одностранных разрывов в ДНК [21].

Оксид азота, генерируемый макрофагами, клетками Купфера, натуральными киллерами и эндотелиальными клетками, оказывает цитостатическое и цитотоксическое действие на многие типы опухолевых клеток [22]. Цитотоксическое действие NO связывают также с его способностью подавлять активность FeS (железосерных белков), участвующих в переносе

электронов и протонов в дыхательной цепи митохондрий [23]. Продолжительная гиперпродукция NO действует как проапоптотический модулятор, активируя протеазы семейства каспаз через высвобождение митохондриального цитохрома C в цитоплазму, повышение экспрессии p53, p38MAPK и снижение экспрессии белков семейства Bcl-2 [24]. При увеличении концентрации NO происходит стабилизация опухолевого супрессора p53 посредством фосфорилирования остатков серина/треонина, а также его накопления в клетке, что приводит к остановке клеточного цикла и инициации апоптоза [25].

В недавних исследованиях было продемонстрировано, что NO может играть роль эпигенетического регулятора экспрессии генов. Оксид азота способен напрямую ингибировать каталитическую активность JmjC-домена гистоновых деметилаз путем связывания с негемовым железом кофактора. Также было установлено, что в ответ на действие NO в значительной степени меняется профиль экспрессии miRNAs (малых некодирующих молекул РНК) [18].

Оксид азота также участвует в регуляции проканцерогенных сигнальных путей. Так, при повышении

концентрации NO (свыше 300 nM) в клетках активируются рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), тирозинкиназы Src, G-белки Ras, протоонкоген с-Мус, серин/треониновая протеинкиназа (Akt), β -катенин и фактор транскрипции Ets-1 [26, 27]. Приобретение способности клеток трижды негативного рака молочной железы с повышенной экспрессией iNOS к инвазии связывают с NO-зависимой активацией киназы, регулируемой внеклеточными сигналами (ERK) [28]. На клеточных культурах меланомы, а также на моделях ксенотрансплантатов у животных было продемонстрировано, что NO способствует активации сигнального пути mTOR посредством S-нитрозилирования ряда белков-регуляторов, в частности супрессора опухолевого роста TSC2 [29]. В клетках ряда линий опухолей толстой кишки NO вызывает активацию онкогенного пути Wnt/ β -catenin через негативную регуляцию активности DKK1 (эндогенного ингибитора Wnt) [30]. В клетках плоскоклеточной карциномы ротовой полости была показана стабилизация HIF-1 α (фактора, индуцируемого гипоксией) продуктами свободнорадикальных реакций между NO и O₂ или O₂⁻ [31].

ЭНДОТЕЛИАЛЬНАЯ СИНТАЗА ОКСИДА АЗОТА

Эндотелиальная NO-синтаза представляет собой нерастворимый фермент с молекулярной массой около 135 кДа. N-концевая последовательность eNOS подвергается миристоилрованию и пальмитоилрованию, что определяет ее субклеточную локализацию и косвенно – активность. Эндотелиальная NO-синтаза взаимодействует с мембраной эндотелиальных клеток в caveолах, где сосредоточено большое количество регуляторных молекул, связанных с ионными каналами и рецепторами G-белков, факторов роста и др. Ацилирование N-терминальных остатков глицина в молекулах фермента облегчает взаимодействие eNOS со структурным каркасным белком caveolin-1 и приводит к торможению активности фермента в отсутствие стимулирующих воздействий. Мутация сайта N-миристоилрования превращает eNOS из мембранного белка в менее активную цитозольную форму [32–34]. Эндотелиальная NO-синтаза в основном экспрессируется в венозных, артериальных, лимфатических эндотелиальных клетках, миоцитах, тромбоцитах, нейронах, а также в эпителиальных и стромальных опухолях. Оксид азота, генерируемый eNOS эндотелия, диффундирует в гладкомышечные клетки, где активирует растворимую гуанилатциклазу (sGC). Она активирует серин-треониновые протеинкиназы (PKGs), зависимые от cGMP (циклического гуанозинмонофосфата), что приводит к понижению уровня Ca²⁺ (рис. 2). Данные протеинкиназы фосфорилируют белки, играющие большую роль в регуляции подвижности клеток, формировании клеточных контактов, а также влияющие на пролиферацию и дифференцировку клеток [7, 35, 36]. Уровень внутриклеточного

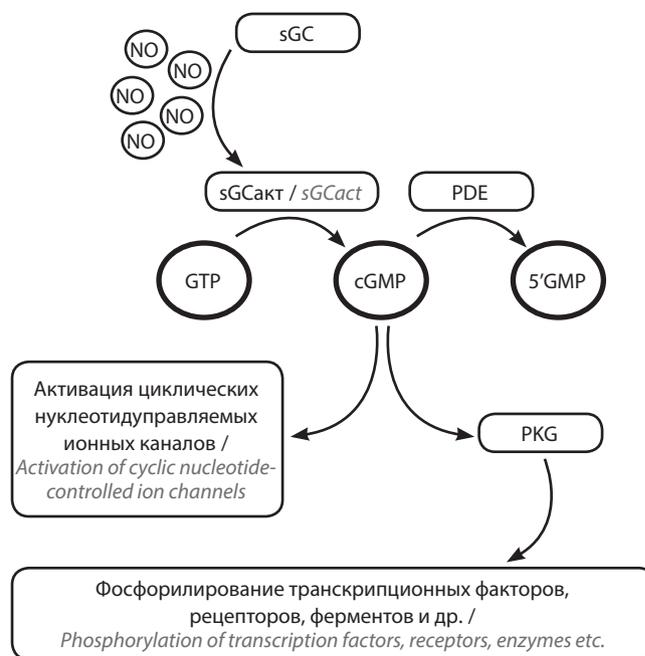


Рис. 2. Сигнальный путь NO/sGC/cGMP/PKG. NO – оксид азота; sGC – растворимая гуанилатциклаза; sGCакт – активированная форма растворимой гуанилатциклазы; GTP – гуанозинтрифосфат; cGMP – циклический гуанозинмонофосфат; 5'GMP – 5'-гуанозинмонофосфат; PDE – фосфодиэстераза; PKG – cGMP-зависимая протеинкиназа (протеинкиназа G)

Fig. 2. NO/sGC/cGMP/PKG signaling pathway. NO – nitric oxide; sGC – soluble guanylyl cyclase; sGCact – the activated form of soluble guanylyl cyclase; GTP – guanosine triphosphate; cGMP – cyclic guanosine monophosphate; 5'GMP – 5'-guanosine monophosphate; PDE – phosphodiesterase; PKG – cGMP-dependent protein kinase (protein kinase G)

кальция является критической детерминантой активности eNOS, так как для максимальной каталитической функции eNOS и транспорта электронов от редуктазного к оксигеназному домену необходимо связывание кальмодулина с ферментом [35, 37]. Посттрансляционная регуляция eNOS происходит за счет фосфорилирования и дефосфорилирования остатков аминокислот. Ключевую роль в регуляции активности eNOS играет серин редуктазного домена (Ser1177) и треонин (Thr495), расположенный в CaM-связывающем домене (см. рис. 1) [6]. При фосфорилировании eNOS по Ser1177 увеличивается внутренняя скорость переноса электронов к оксигеназному домену eNOS. Такая модификация фермента происходит при изменении скорости кровотока, появлении напряжения сдвига, а также при действии брадикинина, фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), инсулин-подобных факторов роста, тиреоидных гормонов, ацетилхолина, эстрадиола, сфингозин-1-фосфата и др. В зависимости от первичного стимула фосфорилирование Ser1177 может осуществляться протеинкиназами Akt, AMPK и PKA. Фосфорилирование по сайту Thr495 протеинкиназой С снижает активность фермента. Другие сайты фосфорилирования eNOS человека включают Ser635, Ser617, Ser114, Ser633, Tyr81 и Tyr657. Фосфорилирование этих остатков, по всей видимости, также

играет большую роль в регуляции ферментативной активности eNOS. В настоящее время этот вопрос активно исследуется. S-нитрозилирование является дополнительным способом посттрансляционной регуляции активности eNOS в эндотелиальных клетках. Оксид азота, продуцируемый ферментом eNOS, нитрозилирует цистеиновые остатки в самом ферменте eNOS. S-нитрозилирование eNOS приводит к ингибированию фермента, а денитрозилирование – к увеличению его активности [38].

Еще одним фактором, определяющим активность синтеза NO, является уровень аргинина [39]. При канцерогенезе его повышение в опухолевых клетках может происходить вследствие увеличения эндогенного синтеза аргинина. Было показано, что гиперэкспрессия ASL (аргининосукцинатлиазы), ответственной за образование L-аргинина, в опухолевых клетках ассоциирована с плохим прогнозом у пациентов с раком молочной железы и толстой кишки. При этом подавление экспрессии ASL с помощью shRNA (коротких РНК, образующих шпильки) или снижение продукции NO ингибитором NOS в опухолевых клетках толстой кишки, молочной железы и гепатоцеллюлярной карциномы человека ингибируют их пролиферацию [40, 41]. Также известно, что опухолевые клетки могут использовать аргинин, секретируемый нормальными клетками других органов, для синтеза NO. Это было показано при совместном культивировании клеток рака яичников и O-ASC (мезенхимальных стволовых клеток) сальника (представляет собой метастатическую нишу при раке яичников) [42].

Еще одним существенным фактором, влияющим на уровни активности eNOS и синтеза NO, является наличие полиморфизмов в гене *eNOS*. Известно более 100 полиморфных вариантов этого гена. Наиболее изучены следующие варианты: 1) T786C в промоторе; 2) варибельное число tandemных повторов (VNTR) в 4-м интроне (варианты аллелей – а и b); 3) G894T в 7-м экзоне [43, 44]. В исследованиях, направленных на определение эффективности терапии бевацизумабом в комбинации со стандартной химиотерапией больных метастатическим колоректальным раком, было показано, что наличие полиморфизмов VNTR или G894T ассоциировано с лучшим прогнозом [45]. Пятилетняя выживаемость у пациентов с немелкоклеточным раком легких при наличии хотя бы 1 аллеля а VNTR в 4-м интроне была значимо выше, чем у пациентов с аллелем b в гомозиготном состоянии [46].

В ходе исследования по выявлению ассоциации наличия специфических полиморфизмов в гене *eNOS* с риском возникновения злокачественного новообразования была обнаружена значимая корреляция между наличием аллелей a/b VNTR в 4-м интроне и частотой возникновения рака простаты; наличием полиморфизма T786C и частотой возникновения рака простаты, мочевого пузыря и молочной железы, а также

между наличием G894T и частотой возникновения рака молочной железы [47].

Следует отметить, что различные компоненты питания также могут влиять на экспрессию и активность eNOS. Полифенолы оказывают комплексное воздействие на синтез и биодоступность NO. В частности, повышение экспрессии eNOS было продемонстрировано при воздействии ряда антиканцерогенных полифенолов (ресвератрола, кверцетина, галлата эпигаллокатехина) на культивируемые клетки эндотелия [48]. В то же время растительные полифенолы – флавоноиды – могут ингибировать PI3K (фосфатидилинозитол-3-киназа)/Akt-зависимую активацию eNOS. Предотвращая сверхэкспрессию ферментов, генерирующих активные формы кислорода, эти вещества увеличивают биодоступность NO. Окончательный эффект флавоноидов зависит от их структуры и концентрации, исследуемого типа клеток и других факторов [49].

ОКСИД АЗОТА И АНГИОГЕНЕЗ

Ослабление контактов между эндотелиальными клетками, вызванное ангиогенными факторами, и разрушение базальной мембраны способствуют миграции эндотелиальных клеток и формированию новых сосудов. Оксид азота влияет на ангиогенез прямым и опосредованным образом. Экспозиция клеток к NO может приводить к ускорению пролиферации и миграции эндотелиальных клеток за счет активации растворимой гуанилатциклазы и нитрования специфических таргетных белков, но также оказывать и противоположные эффекты [50–51].

В исследованиях конца 80-х годов прошлого века было показано, что взаимодействие NO с растворимой гуанилатциклазой приводит к быстрому накоплению cGMP в клетке и активации сигнального пути NO-sGC-cGMP-PKG (см. рис. 2). Позже было установлено, что cGMP способен стимулировать фосфорилирование тирозина в FAK (киназе фокальной адгезии), киназе Src и ERK1/2. В эндотелиальных клетках аорты кролика NO и cGMP увеличивают активность сигнального каскада p21Ras-Raf-1-MEK-ERK1/2, что опосредуется NO-стимулированным фосфорилированием тирозина цитозольных белков [53]. Обработка эндотелиальных клеток млекопитающих донорами NO приводит к увеличению скорости миграции и пролиферации этих клеток при активации PI3K/Akt. Аденовирусная доставка cDNA (комплементарной ДНК) eNOS человека в ишемизированные мышцы задних конечностей крыс вызывает увеличение плотности капилляров и проницаемости сосудов через cGMP-зависимую активацию PI3K [54]. Оксид азота и его активные метаболиты участвуют в регуляции синтеза и активации прометастатических и проангиогенных матриксных металлопротеиназ (MMPs), вовлеченных в деградацию базальной мембраны кровеносных сосудов. Так, NO влияет на баланс между MMPs и их

ингибиторами – TIMP (тканевыми ингибиторами MMPs). Нитрование и олигомеризация TIMP-4, индуцированные пероксинитритом, ослабляют его ингибирующую активность в отношении MMP-2, что усиливает инвазию опухолевых клеток и миграцию эндотелиальных клеток [55]. Оксид азота может опосредовать функцию таких ангиогенных факторов, как VEGF, сфингозин-1-фосфат, ангиопоэтин I (Ang1), эстрогены, инсулин, основной фактор роста фибробластов (bFGF) и др. [56–58]. Для функционирования Ang1, участвующего в дифференцировке и созревании сосудов, необходим NO, синтезируемый eNOS, активация которой опосредована PI3K/Akt (рис. 3). При моделировании канцерогенеза на мышах при нокауте eNOS стимулированный Ang1- и VEGF-ангиогенез значительно подавлен по сравнению с ангиогенезом у мышей дикого типа. Рецептор сфингозин-1-фосфата (S1PR1) высокоэкспрессирован на эндотелиальных клетках и участвует в регулировании их дифференцировки. Взаимодействие лизофосфолипидов с рецепторами S1P приводит к активации eNOS. Активация агонистами обоих подтипов рецептора S1P (S1P1 и S1P3) приводит к фосфорилированию Akt с последующей активацией eNOS посредством фосфорилирования по Ser1177 и дефосфорилирования по Thr495 [59]. Под действием эндостатина происходит ингибирование активности eNOS в эндотелиальных клетках за счет дефосфорилирования Ser1177 протеинфосфатазой 2A, что вызывает антиангиогенный эффект. При этом добавление доноров NO отменяет оказанное эндостатином ингибирование миграции эндотелиальных клеток [60]. Секретируемый тромбоцитами гликопротеин TSP1 (тромбоспондин-1) ингибирует передачу сигналов NO, предотвращая синтез cGMP и его накопление. Такое противодействие передаче сигналов NO приводит к резкому сужению кровеносных сосудов и ускорению агрегации тромбоцитов [61]. Эндотелиальная NO-синтаза может также выступать в роли медиатора при передаче сигнала от стимуляторов эндотелиального роста, таких как VEGF и PGE₂ (простагландин E₂). Действие PGE₂ вызывает увеличение уровня фосфорилирования Akt, eNOS (по Ser1177). Помимо этого, активность eNOS и продукция NO усиливаются за счет активации cAMP-зависимой PKA (протеинкиназы A) и PI3K [62]. Также было показано, что ингибирование активности eNOS уменьшает сверхпроницаемость сосудов опухоли [33, 63].

В регуляцию роста новых сосудов в опухолях наряду с NO вовлечены эндогенные индукторы и ингибиторы ангиогенеза, секретируемые опухолевыми клетками, опухолеассоциированными макрофагами, а также белками внеклеточного матрикса. Переход к ангиогенному фенотипу зависит от баланса положительных и отрицательных ангиогенных факторов, выделяемых опухолью и клетками микроокружения [64]. К индукторам ангиогенеза относят VEGF-A, -B, -C, -D и -E, PDGF-A, -B, -C и -D (тромбоцитарный

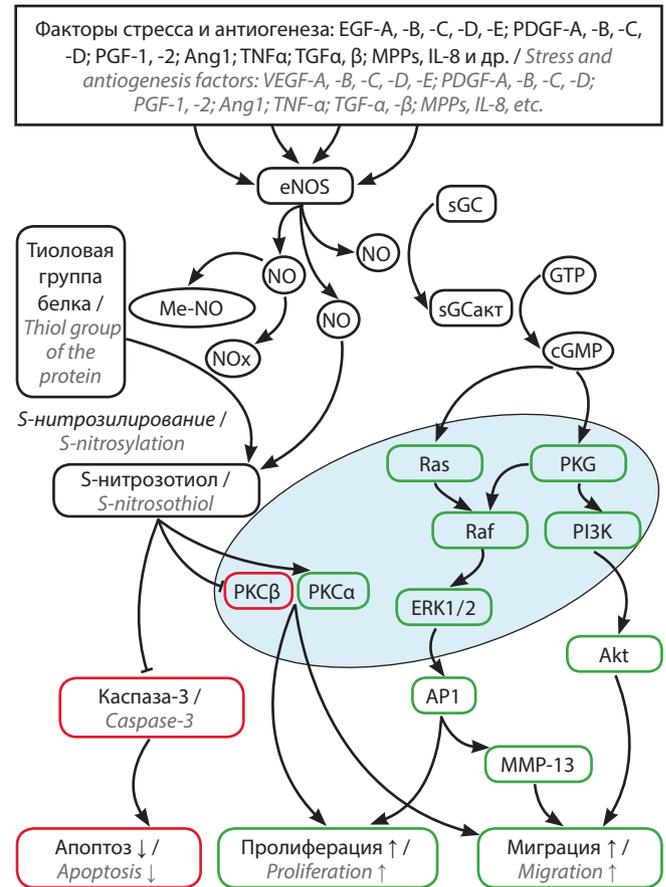


Рис. 3. Сигнальный путь eNOS в ангиогенезе. NO – оксид азота; eNOS – эндотелиальная NO-синтаза; NOx – окислы азота; Me-NO – NO-комплексы металлов; sGC – растворимая гуанилатциклаза; sGCact – активированная форма растворимой гуанилатциклазы; cGMP – циклический гуанозинмонофосфат; PKG – протеинкиназа G; PI3K – фосфатидилинозитол-3-киназа; Akt – серин/треониновая протеинкиназа; Ras – семейство генов, кодирующих малые G-белки; Raf – серин/треониновая протеинкиназа семейства митоген-активируемых протеинкиназ (МАРК); ERK1/2 – регулируемая внеклеточными сигналами протеинкиназа PKCα – протеинкиназа C, α; PKCβ – протеинкиназа C, β; AP1 – активирующий протеин-1, фактор транскрипции; MMP-13 – матриксная металлопротеиназа 13; GTP – гуанозинтрифосфат

Fig. 3. Signaling pathway of eNOS in angiogenesis. NO – nitric oxide; eNOS – endothelial NO synthase; NOx – nitrogen oxides; Me-NO – NO-metal complexes; sGC – soluble guanylyl cyclase; sGCact – activated form of soluble guanylyl cyclase; cGMP – cyclic guanosine monophosphate; PKG – protein kinase G; PI3K – phosphatidylinositol-3 kinase; Akt – serine/threonine protein kinase; Ras – a family of genes encoding small G-proteins; Raf – serine/threonine protein kinase of the mitogen-activated protein kinase family (MAPK); ERK1/2 – extracellular signal-regulated kinase; PKCα – protein kinase C, α; PKCβ – protein kinase C, β; AP1 – activator protein-1, transcription factor; MMP-13 – matrix metalloproteinase 13; GTP – guanosine triphosphate

фактор роста), FGF-1 и -2 (фактор роста фибробластов), PIGF (плацентарный фактор роста), Ang1, TNFα (фактор некроза опухоли α), TGFα и β (трансформирующий фактор роста α и β), MMPs, IL-8 (интерлейкин 8) и PA (активатор плазминогена) [59] (см. рис. 2). При связывании VEGF-A с VEGFR-2 в эндотелиальных клетках увеличивается экспрессия eNOS и iNOS [65]. Дополнительным механизмом активации eNOS

с помощью VEGF является стимулирование выброса кальция и рекрутирования Hsp90 (белка теплового шока 90) [66]. Было показано, что способность VEGF ускорять ангиогенез наблюдается у мышей как с $iNOS^{+/+}$, так и с $iNOS^{-/-}$, но не с $eNOS^{-/-}$, что доказывает ведущую роль eNOS в реализации VEGF-индуцированного ангиогенеза [45]. На модели меланомы B16 продемонстрировано, что NO способствует формированию, созреванию и росту кровеносных сосудов в опухолях у мышей. При этом средняя концентрация NO в ткани как низкометастазирующей меланомы B16F1, так и высокометастазирующей меланомы B16F10 выше, чем в прилегающей ткани, но при этом уровень NO положительно коррелирует с ангиогенной активностью и метастатическим потенциалом опухоли [67].

УЧАСТИЕ ОКСИДА АЗОТА В ОПОСРЕДОВАННОМ EPCs АНГИОГЕНЕЗЕ

Предшественники эндотелиальных клеток (EPCs) представляют собой подтип стволовых клеток с высоким пролиферативным потенциалом, которые могут дифференцироваться в зрелые эндотелиальные клетки, способствуя восстановлению сосудистого эндотелия, неоваскуляризации в ишемизированных и опухолевых тканях. При действии VEGF, G-CSF, bFGF, Epo, HIF-1, эритропоэтина и других факторов происходит высвобождение EPCs из ниш стволовых клеток костного мозга. В основе механизма мобилизации прогенитор-

ных клеток лежит увеличение синтеза NO и eNOS в строме костного мозга за счет гиперактивации сигнального пути PI3K/Akt [43]. При действии NO увеличивается активность MMP-9, что приводит к ослаблению связи между EPCs и клетками стромы и миграции EPCs в периферическую кровь, откуда они попадают в ткань опухоли и затем принимают участие в восстановлении поврежденных участков и образовании новых сосудов [44, 68, 69].

УЧАСТИЕ ОКСИДА АЗОТА В РЕГУЛЯЦИИ ЛИМФАНГИОГЕНЕЗА

В процессе развития опухолей лимфатическая система претерпевает структурную и функциональную перестройку. К лимфангиогенным факторам относят VEGF-C и -D, которые активируют рецептор VEGFR-3 лимфатического эндотелия [70–72]. Опухоли с гиперэкспрессией VEGF-C характеризуются гиперплазией, повышенной плотностью лимфатических сосудов, увеличенной скоростью движения интерстициальной жидкости, что при канцерогенезе способствует лимфогенному метастазированию опухоли. Была выявлена положительная корреляция между экспрессией/активностью NOS и частотой лимфогенного метастазирования при злокачественных опухолях головы и шеи, щитовидной, молочной желез, желудка и желчного пузыря [72] (рис. 4). Установлено, что VEGF-C способен активировать сигнальные каскады PI3K/Akt

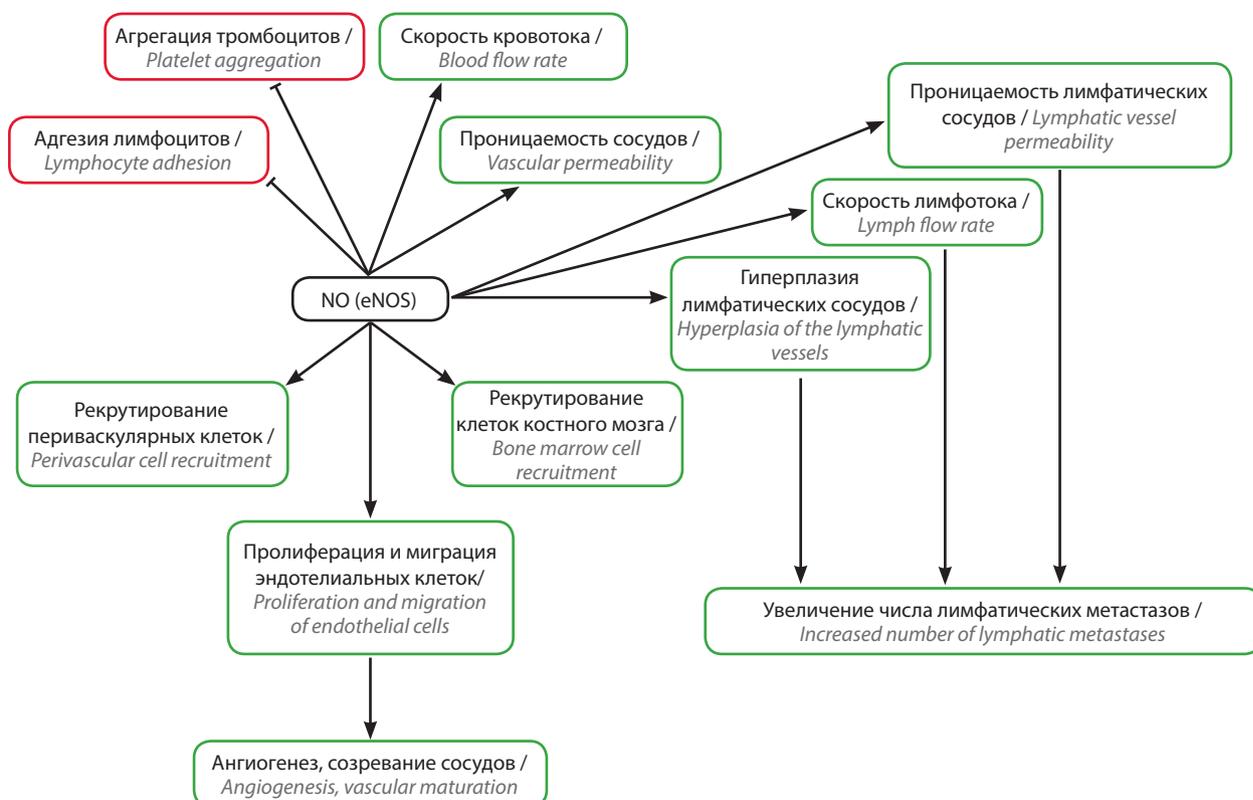


Рис. 4. Участие продуцируемого эндотелиальной NO-синтазой оксида азота (NO) в ангиогенезе и лимфангиогенезе при прогрессии опухолей
Fig. 4. Participation of nitric oxide (NO) produced by endothelial NO synthase in angiogenesis and lymphangiogenesis during tumor progression

и MEK/ERK в LEC (лимфатических эндотелиальных клетках). В свою очередь, активация PI3K/Akt приводит к фосфорилированию ряда мишеней, в том числе eNOS (по Ser1177), а увеличение уровня NO стимулирует пролиферацию LEC. Ингибирование активности PI3K в таких опухолях значительно замедляет образование тубулярных структур и миграцию LEC [73]. При уменьшении образования NO с помощью ингибитора NOS отмечали снижение экспрессии VEGF-C в опухолевых клетках MDA-MB-231. У мышей с подавленной экспрессией фермента (eNOS^{-/-}) наблюдается менее активный лимфангиогенез, уменьшается количество метастазов. В образцах некоторых опухолей человека образование NO и нитротирозина коррелирует с экспрессией VEGF-C/VEGF-D и уровнем метастазирования в лимфатические узлы [4, 10].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в зависимости от концентрации и условий микроокружения NO может оказывать как про-, так и антиканцерогенное действие. К настоящему моменту накоплено большое количество данных, свидетельствующих о том, что повышение концентрации NO вследствие гиперактивации eNOS приводит к повышению проницаемости сосудов, усилению активности проангиогенных факторов, мобилизации предшественников эндотелиоцитов из костного мозга и усилению VEGF-C/VEGF-D-индуцированного лимфангиогенеза. Проканцерогенные эффекты eNOS реализуются посредством сигнального каскада

NO-sGC-cGMP-PKGs или реакций нитрозирования/денитрозиования многочисленных функциональных белков, в том числе онкобелков. Регуляция активности eNOS осуществляется на транскрипционном, посттранскрипционном, трансляционном, посттрансляционном и метаболическом уровнях. В связи с этим при анализе статуса eNOS в эндотелии сосудов опухолей наряду с уровнем экспрессии фермента необходимо учитывать также его функциональную активность и количество синтезированного им NO.

При повышенной активности eNOS в эндотелии сосудов опухолей представляется перспективным селективное ингибирование активности фермента. Однако для практической оценки такой стратегии необходимы более глубокие и детальные доклинические исследования. При снижении активности фермента нельзя не учитывать критически важную роль eNOS в поддержании гомеостаза сердечно-сосудистой и других систем. В связи с этим представляется целесообразным провести сравнительную оценку селективных ингибиторов eNOS и отработать режимы таргетирования фермента, позволяющие избежать его системного ингибирования. На основе анализа данных литературы и с учетом положительной взаимосвязи активности VEGF и активности eNOS наиболее перспективным терапевтическим подходом, направленным на снижение ангиогенеза, метастазирования и опухолевого роста, на данный момент представляется ингибирование активности eNOS в сочетании с ингибированием VEGF.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Wang L., Shi G.G., Yao J.C. et al. Expression of endothelial nitric oxide synthase correlates with the angiogenic phenotype of and predicts poor prognosis in human gastric cancer. *Gastric Cancer* 2005;8(1):18–28. DOI: 10.1007/s10120-004-0310-7.
2. Choudhari S.K., Chaudhary M., Bagde S. et al. Nitric oxide and cancer: a review. *World J Surg Oncol* 2013;11:118. DOI: 10.1186/1477-7819-11-118.
3. Somasundaram V., Basudhar D., Bharadwaj G. et al. Molecular mechanisms of nitric oxide in cancer progression, signal transduction, and metabolism. *Antioxid Redox Signal* 2019;30:1124–43. DOI: 10.1089/ars.2018.7527.
4. Nakamura Y., Yasuoka H., Tsujimoto M. et al. Nitric oxide in breast cancer: induction of vascular endothelial growth factor-C and correlation with metastasis and poor prognosis. *Clin Cancer Res* 2006;12(4):1201–7. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-05-1269.
5. Randriamboavonjy V., Fleming I. Endothelial nitric oxide synthase (eNOS) in platelets: how is it regulated and what is it doing there? *Pharmacol Rep* 2005;57 Suppl:59–65.
6. Forstermann U., Sessa W.C. Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur Heart J* 2012;33(7):829–37, 837a–837d. DOI: 10.1093/eurheartj/ehr304.
7. Rabender C.S., Alam A., Sundaresan G. et al. The role of nitric oxide synthase uncoupling in tumor progression. *Mol Cancer Res* 2015;13(6):1034–43. DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-15-0057-T.
8. Ravichandran L.V., Johns R.A., Rengasamy A. Direct and reversible inhibition of endothelial nitric oxide synthase by nitric oxide. *Am J Physiol* 1995;268(6 Pt 2):H2216–23. DOI: 10.1152/ajpheart.1995.268.6.H2216.
9. Furuta S. Basal S-nitrosylation is the guardian of tissue homeostasis. *Trends Cancer* 2017;3(11):744–8. DOI: 10.1016/j.trecan.2017.09.003.
10. Дерягина В.П., Рыжова Н.И., Савлущинская Л.А. и др. Особенности экспрессии NO-синтазы (iNOS и eNOS) в зависимости от скорости роста аденокарциномы Эрлиха у мышей. *Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина* 2018;29(1–2):40–4. [Deryagina V.P., Ryzhova N.I., Savluchinskaya L.A. et al. Features of expression of NO-synthases (iNOS and eNOS) depending on the growth rate of Ehrlich's adenocarcinoma in mice. *Vestnik RONC im. N.N. Blokhina = Journal of N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center RAMS* 2018;29(1–2):40–4. (In Russ.)].
11. Ванин А.Ф. Динитрозильные комплексы железа с тиолсодержащими лигандами: физикохимия, биология, медицина. М.; Ижевск: Институт компьютерных исследований, 2015. 220 с. [Vanin A.F. Dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands: physical chemistry, biology, medicine. М.; Izhevsk: Institut kompyuternykh issledovaniy, 2015. 220 p. (In Russ.)].

12. Benhar M., Forrester M.T., Stamler J.S. Protein denitrosylation: enzymatic mechanisms and cellular functions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2009;10(10):721–32. DOI: 10.1038/nrm2764.
13. Wei W., Li B., Hanes M.A. et al. S-nitrosylation from GSNOR deficiency impairs DNA repair and promotes hepatocarcinogenesis. *Sci Transl Med* 2010;2(19):19ra13. DOI: 10.1126/scitranslmed.3000328.
14. Thomas D.D., Ridnour L.A., Isenberg J.S. et al. The chemical biology of nitric oxide: implications in cellular signaling. *Free Radic Biol Med* 2008;4(1):18–31. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2008.03.020.
15. Sahni S., Hickok J.R., Thomas D.D. Nitric oxide reduces oxidative stress in cancer cells by forming dinitrosyliron complexes. *Nitric Oxide* 2018;76:37–44. DOI: 10.1016/j.niox.2018.03.003.
16. Thomas D.D. Breathing new life into nitric oxide signaling: A brief overview of the interplay between oxygen and nitric oxide. *Redox Biol* 2015;5:225–33. DOI: 10.1016/j.redox.2015.05.002.
17. Iyer A.K., Azad N., Wang L., Rojanasakul Y. Role of S-nitrosylation in apoptosis resistance and carcinogenesis. *Nitric Oxide* 2008;19(2):146–51. DOI: 10.1016/J.niox.2008.04.019.
18. Mintz J., Vedenko A., Rosete O. et al. Current Advances of Nitric Oxide in Cancer and Anticancer Therapeutics. *Vaccines(Basel)* 2021;9(2):94. DOI: 10.3390/vaccines9020094.
19. Wink D.A., Vodovotz Y., Laval J. et al. The multifaceted roles of nitric oxide in cancer. *Carcinogenesis* 1998;19(5):711–21. DOI: 10.1093/carcin/19.5.711.
20. Jones L.E. Jr, Ying L., Hofseth A.B. et al. Differential effects of reactive nitrogen species on DNA base excision repair initiated by the alkyladenine DNA glycosylase. *Carcinogenesis* 2009;30(12):2123–9. DOI: 10.1093/carcin/bgp256.
21. Graziewicz M., Wink D.A., Laval F. Nitric oxide inhibits DNA ligase activity: potential mechanisms for NO-mediated DNA damage. *Carcinogenesis* 1996;17(11):2501–5. DOI: 10.1093/carcin/17.11.2501.
22. Xiao L., Eneroth P.H., Qureshi G.A. Nitric oxide synthase pathway may mediate human natural killer cell cytotoxicity. *Scand J Immunol* 1995;42(5):505–11. DOI: 10.1111/j.1365-3083.1995.tb03687.x.
23. Bastian N.R., Yim C.Y., Hibbs J.B., Samlowski W.E. Induction of iron-derived EPR signals in murine cancers by nitric oxide. Evidence for multiple intracellular targets. *J Biol Chem* 1994;269(7):5127–31.
24. Hara M.R., Snyder S.H. Nitric oxide-GAPDH-Siah: a novel cell death cascade. *Cell Mol Neurobiol* 2006;26(4–6):527–38. DOI: 10.1007/s10571-006-9011-6.
25. Li C.Q., Pang B., Kiziltepe T. et al. Threshold effects of nitric oxide-induced toxicity and cellular responses in wild-type and p53-null human lymphoblastoid cells. *Chem Res Toxicol* 2006;19(3):399–406. DOI: 10.1021/tx050283e.
26. Marshall H.E., Foster M.W. S-nitrosylation of Ras in breast cancer. *Breast Cancer Res* 2012;14(6):113. DOI: 10.1186/bcr3331.
27. Lim K.H., Ancrile B.B., Kashatus D.F., Counter C.M. Tumour maintenance is mediated by eNOS. *Nature* 2008;452(7187):646–9. DOI: 10.1038/nature06778.
28. Garrido P., Shalaby A., Walsh E.M. et al. Impact of inducible nitric oxide synthase (iNOS) expression on triple negative breast cancer outcome and activation of EGFR and ERK signaling pathways. *Oncotarget* 2017;8(46):80568–88. DOI: 10.18632/oncotarget.19631.
29. Lopez-Rivera E., Jayaraman P., Parikh F. et al. Inducible nitric oxide synthase drives mTOR pathway activation and proliferation of human melanoma by reversible nitrosylation of TSC2. *Cancer Res* 2014;74(4):1067–78. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-13-0588.
30. Du Q., Zhang X., Liu Q. et al. Nitric oxide production upregulates Wnt/beta-catenin signaling by inhibiting Dickkopf-1. *Cancer Res* 2013;73(21):6526–37. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-13-1620.
31. Quintero M., Brennan P.A., Thomas G.J., Moncada S. Nitric oxide is a factor in the stabilization of hypoxia-inducible factor-1alpha in cancer: role of free radical formation. *Cancer Res* 2006;66(2):770–4. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-0333.
32. Dimmeler S., Fleming I., Fisslthaler B. et al. Activation of nitric oxide synthase in endothelial cells by Akt-dependent phosphorylation. *Nature* 1999;399(6736):601–5. DOI: 10.1038/21224.
33. Ju H., Zou R., Venema V.J., Venema R.C. Direct interaction of endothelial nitric-oxide synthase and caveolin-1 inhibits synthase activity. *J Biol Chem* 1997;272(30):18522–5. DOI: 10.1074/jbc.272.30.18522.
34. Sakoda T., Hirata K., Kuroda R. et al. Myristoylation of endothelial cell nitric oxide synthase is important for extracellular release of nitric oxide. *Mol Cell Biochem* 1995;152(2):143–8. DOI: 10.1007/BF01076076.
35. Rafikov R., Fonseca F.V., Kumar S. et al. eNOS activation and NO function: structural motifs responsible for the post-translational control of endothelial nitric oxide synthase activity. *J Endocrinol* 2011;210(3):271–84. DOI: 10.1530/JOE-11-0083.
36. Северина И.С. Оксид азота. Потенцирование NO-зависимой активации растворимой гуанилатциклазы – (пато)физиологическое и фармакотерапевтическое значение. *Биомедицинская химия* 2007;53(4):385–99. [Severina I.S. Nitric oxide. Potentiation of NO-dependent activation of soluble guanylate cyclase – (patho)physiological and pharmacotherapeutic significance. *Biomedicinskaya himiya = Biomedical Chemistry* 2007;53(4):385–99. (In Russ.)].
37. Hemmens B., Mayer B. Enzymology of nitric oxide synthases. *Methods Mol Biol* 1998;100:1–32. DOI: 10.1385/1-59259-749-1:1.
38. Erwin P.A., Lin A.J., Golan D.E., Michel T. Receptor-regulated dynamic S-nitrosylation of endothelial nitric-oxide synthase in vascular endothelial cells. *J Biol Chem* 2005;280(20):19888–94. DOI: 10.1074/Jbc.M413058200.
39. Keshet R., Erez A. Arginine and the metabolic regulation of nitric oxide synthesis in cancer. *Dis Model Mech* 2018;11(8):dmm033332. DOI: 10.1242/dmm.033332.
40. Huang H.L., Chen W.C., Hsu H.P. et al. Argininosuccinate lyase is a potential therapeutic target in breast cancer. *Oncol Rep* 2015;34(6):3131–9. DOI: 10.3892/or.2015.4280.
41. Huang H.L., Chen W.C., Hsu H.P. et al. Silencing of argininosuccinate lyase inhibits colorectal cancer formation. *Oncol Rep* 2017;37(1):163–70. DOI: 10.3892/or.2016.5221.
42. Rizi S.B., Caneba C., Nowicka A. et al. Nitric oxide mediates metabolic coupling of omentum-derived adipose stroma to ovarian and endometrial cancer cells. *Cancer Res* 2015;75(2):456–71. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-14-1337.
43. Zhao X., Liu H.Q., Li J., Liu X.L. Endothelial progenitor cells promote tumor growth and progression by enhancing new vessel formation. *Oncol Lett* 2016;12(2):793–9. DOI: 10.3892/ol.2016.4733.
44. Heissig B., Hattori K., Dias S. et al. Recruitment of stem and progenitor cells from the bone marrow niche requires MMP-9 mediated release of kit-ligand. *Cell* 2002;109(5):625–37. DOI: 10.1016/s0092-8674(O2)00754-7.
45. Fukumura D., Gohongi T., Kadambi A. et al. Predominant role of endothelial nitric oxide synthase in vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis and vascular permeability. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98(5):2604–9. DOI: 10.1073/pnas.041359198.
46. Fujita S., Masago K., Hatachi Y. et al. Genetic polymorphisms in the endothelial nitric oxide synthase gene correlate with overall survival in advanced non-small-cell lung cancer patients treated with platinum-based doublet chemotherapy. *BMC Med Genet* 2010;11:167. DOI: 10.1186/1471-23-50-11-167.

47. Oliveira-Paula G.H., Lacchini R., Tanus-Santos J.E. Endothelial nitric oxide synthase: From biochemistry and gene structure to clinical implications of NOS3 polymorphisms. *Gene* 2016; 575(2 Pt 3):584–99. DOI: 10.1016/j.gene.2015.09.061.
48. Xia N., Forstermann U., Li H. Resveratrol and endothelial nitric oxide. *Molecules* 2014;19(10):16102–21. DOI: 10.3390/molecules1910-16102.
49. Duarte J., Francisco V., Perez-Vizcaino F. Modulation of nitric oxide by flavonoids. *Food Funct* 2014;5(8):1653–68. DOI: 10.1039/c4fo00144c.
50. Fukumura D., Kashiwagi S., Jain R.K. The role of nitric oxide in tumour progression. *Nat Rev Cancer* 2006;6(7):521–34. DOI: 10.1038/nrc1910.
51. Hanahan D., Folkman J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell* 1996;86(3):353–64. DOI: 10.1016/s0092-8674(00)80108-7.
52. Ziche M., Morbidelli L. Molecular regulation of tumour angiogenesis by nitric oxide. *Eur Cytokine Netw* 2009;20(4):164–70. DOI: 10.1684/ecn.2009.0169.
53. Oliveira C.J., Schindler F., Ventura A.M. et al. Nitric oxide and cGMP activate the Ras-MAP kinase pathway-stimulating protein tyrosine phosphorylation in rabbit aortic endothelial cells. *Free Radic Biol Med* 2003;35(4):381–96. DOI: 10.1016/s0891-5849(03)00311-3.
54. Kawasaki K., Smith Jr R.S., Hsieh C.M. et al. Activation of the phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase Akt pathway mediates nitric oxide-induced endothelial cell migration and angiogenesis. *Mol Cell Biol* 2003;23(16):5726–37. DOI: 10.1128/mcb.23.16.5726-5737.2003.
55. Donnini S., Monti M., Roncone R. et al. Peroxynitrite inactivates human-tissue inhibitor of metalloproteinase-4. *FEBS Lett* 2008;582(7):1135–40. DOI: 10.1016/j.febslet.2008.02.080.
56. Dudzinski D.M., Michel T. Life history of eNOS: partners and pathways. *Cardiovasc Res* 2007;75(2):247–60. DOI: 10.1016/j.cardiores.2007.03.23.
57. Babaei S., Teichert-Kuliszewska K., Monge J.C. et al. Role of nitric oxide in the angiogenic response in vitro to basic fibroblast growth factor. *Circ Res* 1998;82(9):1007–15. DOI: 10.1161/01.res.82.9.1007.
58. Babaei S., Teichert-Kuliszewska K., Zhang Q. et al. Angiogenic actions of angiopoietin-1 require endothelium-derived nitric oxide. *Am J Pathol* 2003;162(6):1927–36.
59. Tolle M., Klockl L., Wiedon A. et al. Regulation of endothelial nitric oxide synthase activation in endothelial cells by S1P1 and S1P3. *Biochem Biophys Res Commun* 2016;476(4):627–4. DOI: 10.1016/j.bbrc.2016.06.009.
60. Urbich C., Reissner A., Chavakis E. et al. Dephosphorylation of endothelial nitric oxide synthase contributes to the anti-angiogenic effects of endostatin. *FASEB J* 2002;16(7):706–8. DOI: 10.1096/fj.01-0637fje.
61. Isenberg J.S., Frazier W.A., Roberts D. Thrombospondin-1: a physiological regulator of nitric oxide signaling. *Cell Mol Life Sci* 2008;65(5):728–2. DOI: 10.1007/S00018-007-7488-x.
62. Namkoong S., Lee S.J., Kim C.K. et al. Prostaglandin E2 stimulates angiogenesis by activating the nitric oxide/cGMP pathway in human umbilical vein endothelial cells. *Exp Mol Med* 2005;37(6):588–600. DOI: 10.1038/emmm.2005.72.
63. Brouet A., DeWever J., Martinive P. et al. Antitumor effects of in vivo caveolin gene delivery are associated with the inhibition of the proangiogenic and vasodilatory effects of nitric oxide. *FASEB J* 2005;19(6):602–4. DOI: 10.1096/fj.04-2682fje.
64. Alsharabasy A.M., Glynn S.A., Pandit A. The role of extracellular matrix in tumour angiogenesis: the throne has NOx servants. *Biochem Soc Trans* 2020;48(6):2539–55. DOI: 10.1042/BST20200208.
65. Kroll J., Waltenberger J. VEGF-A induces expression of eNOS and iNOS in endothelial cells via VEGF receptor-2(KDR). *Biochem Biophys Res Commun* 1998;252(3):743–6. DOI: 10.1006/bbrc.1998.9719.
66. Duda D.G., Fukumura D., Jain R.K. Role of eNOS in neovascularization: NO for endothelial progenitor cells. *Trends Mol Med* 2004;10(4):143–5. DOI: 10.1016/j.molmed.2004.02.001.
67. Kashiwagi S., Izumi Y., Gohongi T. et al. NO mediates mural cell recruitment and vessel morphogenesis in murine melanomas and tissue-engineered blood vessels. *J Clin Invest* 2005;115(7):1816–27. DOI: 10.1172/JCI24015.
68. Aicher A., Heeschen C., Mildner-Rihm C. et al. Essential role of endothelial nitric oxide synthase for mobilization of stem and progenitor cells. *Nat Med* 2003;9(11):1370–76. DOI: 10.1038/nm948.
69. De la Puente P., Muz B., Azab F., Azab A.K. Cell trafficking of endothelial progenitor cells in tumor progression. *Clin Cancer Res* 2013;19(13):3360–8. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-0462.
70. Lahdenranta J., Hagendoorn J., Padera T.P. et al. Endothelial nitric oxide synthase mediates lymphangiogenesis and lymphatic metastasis. *Cancer Res* 2009;69(7):2801–8. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-4051.
71. Padera T.P., Meijer E.F., Munn L.L. The Lymphatic System in Disease Processes and Cancer Progression. *Annu Rev Biomed Eng* 2016;18:125–58. DOI: 10.1146/annurev-bioeng-112315-031200.
72. Hoshida T., Isaka N., Hagendoorn J. et al. Imaging steps of lymphatic metastasis reveals that vascular endothelial growth factor-C increases metastasis by increasing delivery of cancer cells to lymph nodes: therapeutic implications. *Cancer Res* 2006;66(16):8065–75. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-1392.
73. Coso S., Zeng Y., Opeskin K., Williams E.D. Vascular endothelial growth factor receptor-3 directly interacts with phosphatidylinositol 3-kinase to regulate lymphangiogenesis. *PLoS One* 2012;7(6):e39558. DOI: 10.1371/journal.pone.0039558.

Вклад авторов

В.П. Дерягина: рассмотрение и анализ публикаций по теме обзора, получение и анализ экспериментальных данных, написание текста статьи;

К.И. Кирсанов: обзор, анализ и обобщение данных литературы, написание текста статьи;

Н.И. Рыжова, Л.А. Савлучинская: сбор, анализ и обобщение данных литературы.

Authors' contributions

V.P. Deryagina: consideration and analysis of articles on the subject of the review, experimental data acquisition and analysis, article writing;

K.I. Kirsanov: review, analysis and synthesis of literature data, article writing;

N.I. Rizhova, L.A. Savluchinskaya: collection, analysis and synthesis of literature data.

ORCID авторов / ORCID of authors

В.П. Дерягина / V.P. Deryagina: <https://orcid.org/0000-0002-3204-3481>;

Н.И. Рыжова / N.I. Rizhova: <https://orcid.org/0000-0002-4224-6303>;

К.И. Кирсанов / K.I. Kirsanov: <https://orcid.org/0000-0002-8599-6833>.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 17-15-01526).

Financing. The research was supported by the Russian Science Foundation (grant No. 17-15-01526).