

## ОБЗОРЫ

## REVIEWS

## Пироптоз — воспалительная форма клеточной гибели

А.А. Вартанян, В.С. Косоруков

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Каширское ш., д. 24, Москва, Российская Федерация, 115478

## РЕФЕРАТ

Пироптоз, каспаза-1-зависимая воспалительная форма гибели клетки, индуцируется внутриклеточными патогенами или повреждением тканей. Активация прокаспазы-1, необходимая для процессинга провоспалительных цитокинов про-IL-1 $\beta$  и про-IL-18, происходит в макромолекулярных белковых комплексах, называемых инфламасомами. При инфекциях, вызванных грам-отрицательными бактериями, в сборке инфламасомы участвует каспаза-4 и каспаза-5. Первоначально идентифицированный как защитный механизм врожденного иммунитета, пироптоз сегодня не ограничивается ингибированием размножения внутриклеточных патогенов. В данном обзоре обсуждаются молекулярные механизмы гибели клетки по типу пироптоза и возможности вовлечения пироптоза в гибель опухолевых клеток.

**Ключевые слова:** клеточная гибель, пироптоз, каспазы, воспаление, врожденный иммунитет.

**Получено:** 24 декабря 2019 г.

**Принято в печать:** 17 марта 2020 г.

*Для переписки:* Амалия Арташевна Вартанян, д-р биол. наук, ул. Каширская, д. 24, Москва, Российская Федерация, 115478; тел.: +7(499)324-10-65; e-mail: zhivotov57@mail.ru

*Для цитирования:* Вартанян А.А., Косоруков В.С. Пироптоз — воспалительная форма клеточной гибели. Клиническая онкогематология. 2020;13(2):129–35.

DOI: 10.21320/2500-2139-2020-13-2-129-135

## Pyroptosis as Inflammatory Cell Death

AA Vartanyan, VS Kosorukov

NN Blokhin National Medical Cancer Research Center, 24 Kashirskoye sh., Moscow, Russian Federation, 115478

## ABSTRACT

Pyroptosis, caspase-1-dependent inflammatory cell death, is induced by intracellular pathogens or tissue lesions. Pro-caspase-1 activation, which is essential for the processing of proinflammatory cytokines pro-IL-1 $\beta$  and pro-IL-18, occurs in macromolecular protein complexes, also referred to as inflammasomes. In the gram-negative bacilli-induced infections inflammasome assembly incorporates caspase-4 and caspase-5. Originally identified as a protective mechanism of innate immunity, at present pyroptosis is not limited to the inhibition of intracellular pathogen multiplication. The current review discusses molecular mechanisms of pyroptosis-like cell death and possible pyroptosis involvement in tumor cell death.

**Keywords:** cell death, pyroptosis, caspases, inflammation, innate immunity.

**Received:** December 24, 2019

**Accepted:** March 17, 2020

*For correspondence:* Amaliya Artashevna Vartanyan, PhD in Biology, 24 Kashirskoye sh., Moscow, Russian Federation, 115478; Tel.: +7(499)324-10-65; e-mail: zhivotov57@mail.ru

*For citation:* Vartanyan AA, Kosorukov VS. Pyroptosis as Inflammatory Cell Death. Clinical oncohematology. 2020;13(2):129–35 (In Russ).

DOI: 10.21320/2500-2139-2020-13-2-129-135

## ВВЕДЕНИЕ

Химиотерапия является основным, а при некоторых формах и стадиях злокачественной опухоли единственным методом лечения онкологических больных. Многочисленные экспериментальные и клинические исследования в области онкологии показали важную роль апоптоза в механизмах чувствительности

к широкому спектру противоопухолевых препаратов. Апоптоз, запрограммированная гибель клетки, представляет собой цепь последовательных реакций, приводящих в действие механизмы разрушения клетки с последующей утилизацией остатков макрофагами. Несмотря на богатый арсенал высокоактивных противоопухолевых препаратов, эффективность химиотерапии ограничивается лекарственной резистентностью. В основе множественной лекарственной

устойчивости лежит ликвидация опухолевой клеткой собственных сигнальных путей запрограммированной гибели. Утрата программы клеточной гибели дает возможность клетке сохранять жизнеспособность в присутствии высоких концентраций противоопухолевых лекарств и формировать опухолевую ткань, резистентную к лекарственному лечению. Достичь реактивации апоптоза в резистентных к терапии опухолевых клетках практически нереально. По всей видимости, искать надо возможности вовлечения других типов клеточной гибели в элиминирование таких клеток.

В 1992 г. А. Zychlinsky и соавт. показали, что *Shigella flexneri* индуцирует гибель макрофагов. Этот процесс был опосредован не каспазой-3, а каспазой-1: специфический ингибитор каспазы-1 Ac-YVAD-CHO блокировал гибель макрофагов [1]. В 2001 г. М.А. Brennan и В.Т. Cookson описали механизм клеточного самоуничтожения в инфицированных *Salmonella typhimurium* макрофагах [2]. Этот механизм клеточной гибели авторы назвали пироптозом — «смертью в огне». Несколько позднее появилась публикация о гибели макрофагов, индуцированной другим патогеном — возбудителем сибирской язвы [3]. Оказалось, что хотя оба этих агента активируют каспазу-1 разными путями, конечным результатом в обоих случаях является один и тот же процесс клеточной гибели, заключающийся в активации синтеза и секреции провоспалительных цитокинов и высвобождении клеточного содержимого во внеклеточное пространство. Основываясь на полученных результатах, авторы предложили следующую схему гибели клетки. Токсин или инфицирующий агент активируют каспазу-1, которая запускает внутри клетки несколько процессов: синтез и секрецию провоспалительных цитокинов, разрушение ДНК и формирование пор в мембране. В результате поступления в клетку воды и ионов она набухает и подвергается лизису, высвобождая наружу свое содержимое. Как следует из рассуждения авторов, критическую роль в инфицированной патогенами клетке играет каспаза-1 [3]. Мыши с нокаутом этого фермента восприимчивы к инфекциям, но устойчивы к токсическому шоку и повреждению тканей [4]. Таким образом, в ответ на присутствие чужеродного агента или повреждение тканей запускается два процесса: высвобождение провоспалительных интерлейкинов (IL) и провоспалительная запрограммированная гибель клетки.

Пироптоз достаточно активно изучался как патоген-активируемая гибель клетки. Сегодня появились убедительные доказательства участия каспазы-1 в инфаркте миокарда, церебральной ишемии, нейродегенеративных заболеваниях, воспалительных заболеваниях кишечника, эндотоксиновом шоке [5]. В 2010 г. было показано, что в основе уменьшения количества Т-клеток CD4+ при ВИЧ-инфекции также лежит пироптоз [6]. Истощение Т-клеток CD4+ у ВИЧ-инфицированных больных сегодня скорее связывают с активацией пироптоза, чем с цитотоксическим действием вируса.

В последние годы появились публикации и об участии пироптоза в прогрессировании опухолей. В данном обзоре обсуждаются молекулярные меха-

низмы индукции пироптоза и возможности его вовлечения в гибель опухолевых клеток.

## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ИНДУКЦИИ ПИРОПТОЗА

Каспазы представляют собой семейство из 15 высококонсервативных аспартат-специфичных цистеиновых протеаз. Они могут быть сгруппированы в каспазы, индуцирующие апоптоз (каспазы-2, -3, -6, -7, -8, -9 и -10), и провоспалительные каспазы (каспазы-1, -4, -5 и -11). В отличие от апоптотических каспаз провоспалительные каспазы не классифицируются как инициаторные или эффекторные, но индуцируют воспалительную запрограммированную гибель клетки.

В литературе обсуждается по крайней мере два относительно независимых механизма индукции пироптоза. Первый начинается с формирования сигнала внеклеточными стимулами — Toll-подобными рецепторами (TLR), расположенными в плазматической мембране; второй связан с генерацией сигнала Nod-подобными рецепторами (NLR), находящимися в цитоплазме [7, 8]. Было показано, что активация прокаспазы-1 происходит в макромолекулярных комплексах — инфламмосомах [9]. В неактивном состоянии NLR имеет «свернутую» конфигурацию за счет связи N- и C-концов молекулы. После взаимодействия со внутриклеточными бактериальными или вирусными белками связь эта разрывается, что дает возможность NLR стать составляющей инфламмосомы, содержащей также прокаспазу-1, про-IL-1 $\beta$  и про-IL-18, гасдермин и ASC — адаптерный белок с доменом активации каспаз (CARD). Образование сигнального комплекса, включающего в себя несколько молекул прокаспазы-1, сближает их, они димеризуются, в результате происходит аутокаталитическая активация прокаспазы-1 с отщеплением CARD и образованием фрагментов p10 и p20, которые и осуществляют процессинг про-IL-1 $\beta$  и про-IL-18 (рис. 1). Наиболее изученной сегодня как с точки зрения сборки, так и механизма действия является инфламмосома NLRP3.

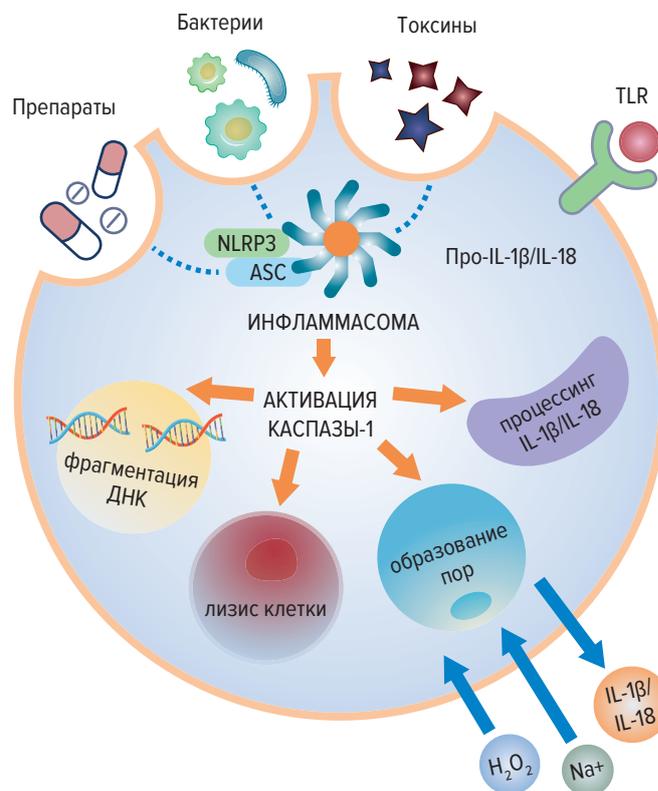
При пироптозе, так же как при апоптозе, наблюдается конденсация хроматина и фрагментация ДНК. Если при апоптозе каспаза активирует дезокси-нуклеазу — фермент, разрезающий ДНК на фрагменты до 200 пар нуклеотидов, при пироптозе каспаза-1 активирует специфическую эндонуклеазу. Последняя узнает интактную ДНК и вносит разрывы в нуклеиновую кислоту, но «ДНК-лестница», характерная для апоптоза, при пироптозе отсутствует. Более того, при пироптозе разрушение ДНК не является необходимым условием для гибели клетки. Показано, что подавление фрагментации ДНК ингибиторами нуклеаз не предотвращает лизис клеток при пироптозе [10]. Другой характеристикой пироптоза, отличающей его от апоптоза, является роль поли(АДФ-рибоза)полимеразы (PARP) в гибели клетки. PARP активируется фрагментированной ДНК и участвует в репарации повреждений ДНК и ремоделировании хроматина за счет поли-АДФ-рибозилирования гистонов. Для полимеризации АДФ-рибозы PARP в качестве субстрата

использует никотинамидадениндинуклеотид, понижая уровень аденозинтрифосфата (АТФ) в клетке. При апоптозе эффекторные каспазы расщепляют и тем самым инактивируют PARP, предотвращая репарацию расщепляемой ДНК и поддерживая уровень АТФ в клетке, достаточный для дальнейшего хода апоптоза. При пироптозе, индуцированном *Salmonella typhimurium*, PARP не теряет своей активности ни в фазе инициации процесса, ни при терминальных его стадиях [11].

Гасдермины (GSDM) — это группа белков, состоящих из GSDM-A, GSDM-B, GSDM-C, GSDM-D и DFNA59. Эти белки экспрессируются главным образом в клетках эпителия и участвуют в его пролиферации и дифференцировке [12]. Каспаза-1 расщепляет GSDM-D (54 кДа), высвобождая его N-домен (31 кДа), который формирует в плазматической мембране поры размером 1,1–2,4 нм [13]. Клетка при этом становится проницаемой для красителей с низкой молекулярной массой, например для этидия бромид и пропидия йодида. В норме плазматическая мембрана для этих красителей непроницаема. При апоптозе содержимое клетки плотно упаковано в апоптотические тельца и не окрашивается ни этидием бромидом, ни пропидием йодидом. Следует отметить, что в поздней стадии апоптоза окрашивание этими красителями может иметь место.

Индукцированное пироптозом появление пор в плазматической мембране нарушает ионный баланс клетки и приводит к ее набуханию и лизису. После разрушения мембраны внутренняя сторона плазматической мембраны оказывается во внеклеточной жидкости, а потому может быть окрашена аннексином V, который связывается с фосфатидилсерином, фосфолипидом внутренней стенки клеточной мембраны. Перемещение фосфатидилсерины на внешнюю мембрану сегодня рассматривается как одно из событий гибели клетки по типу апоптоза. В связи с этим окрашивание аннексином V также не дает возможности отличить апоптоз от пироптоза. Гибель клетки по типу пироптоза *in vitro* подтверждается экспрессией активной каспазы-1, -4 или -5 методом вестерн-блоттинга или проточной цитофлуориметрии, иммунофлуоресцентного окрашивания белков семейства GSDM или определения лактатдегидрогеназы во внеклеточной среде вестерн-блоттингом.

Митохондрии помимо обеспечения клетки энергией также генерируют активные формы кислорода (АФК), которые как активируют некоторые сигнальные пути, так и вызывают гибель клетки, повреждая ее макромолекулы: ДНК и белки. Кардиолипид, компонент внутренней мембраны митохондрий, участвует в функционировании многочисленных ферментов энергетического обмена. Перемещение кардиолипина на внешнюю мембрану митохондрии в результате его окисления АФК в гидроперекись кардиолипина способствует образованию пор в митохондриях. Через эти поры может выходить цитохром c. Выход цитохрома c в цитозоль инициирует формирование апоптосомы и запуск апоптоза. Недавно было показано, что кардиолипид активирует инфламмасому NLRP3 и индуцирует гибель опухолевых клеток [14]. Интересно отметить, что сборку инфламмасы



**Рис. 1.** Молекулярные механизмы пироптоза. Существует два относительно независимых механизма индукции пироптоза: формирование сигнала внеклеточными стимулами — Toll-подобными рецепторами (TLR), расположенными в плазматической мембране, и генерация сигнала Nod-подобными рецепторами (NLR), находящимися в цитоплазме. После взаимодействия со внутриклеточными бактериальными или вирусными белками NLR становится составляющей инфламмасы, содержащей также прокаспазу-1, про-IL-1β, про-IL-18 и ASC — адаптерный белок с доменом активации каспаз (CARD). Сборка инфламмасы приводит к активации каспазы-1, которая запускает внутри клетки несколько процессов: формирование пор в мембране, процессинг провоспалительных цитокинов и фрагментацию ДНК. В результате поступления воды и ионов клетка набухает и подвергается лизису, высвобождая наружу свое содержимое

**Fig. 1.** Molecular mechanisms of pyroptosis. There are two relatively independent pyroptosis induction mechanisms: signal formation by extracellular cues, i.e. Toll-like receptors (TLR) in plasma membrane, and signal generation by Nod-like receptors (NLR) in cytoplasm. After interacting with intracellular bacterial or viral proteins NLR becomes an inflammasome component containing also procaspase-1, pro-IL-1β, pro-IL-18, and ASC, i.e. adaptor protein with caspase activation and recruitment domain (CARD). Inflammasome assembly leads to caspase-1 activation which triggers several processes within a cell: membrane pore formation, processing of proinflammatory cytokines, and DNA fragmentation. Due to water and ion uptake the cell swells, undergoes lysis, and releases its contents outward

NLRP3, приводящую к каспаза-1-зависимой гибели клетки, могут активировать и поврежденные под воздействием противоопухолевых препаратов митохондрии [15]. Таким образом, если сигнал на индукцию апоптоза был недостаточно мощным и апоптоз не мог быть реализован, поврежденные митохондрии могут инициировать запуск пироптоза в опухолевых клетках.

При гибели клетки по типу пироптоза из нее высвобождаются так называемые DAMP (damage-associated molecular patterns) — молекулярные паттерны, связанные с повреждениями, которые

во внеклеточной среде выступают сильными провоспалительными факторами. К их числу принадлежат ДНК, АТФ, РНК, белки теплового шока, жирные кислоты, деградированная митохондриальная ДНК, лейкотриены и простагландины.

Существует и каспаза-1-независимый пироптоз (неканонический путь активации пироптоза) [16]. В многочисленных исследованиях последних лет показано, что гибель клетки по типу пироптоза, инициированная неканоническим сигналом, активируется при остром воспалении, вызванном инфицированием грамотрицательными бактериями. Инфламмосома в этом случае вместо каспазы-1 содержит каспазы-4 и -5.

## ПИРОПТОЗ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Важность пироптоза как механизма врожденного иммунитета, который ингибирует размножение внутриклеточных патогенов, подтверждается тем фактом, что у многих патогенов имеются механизмы, позволяющие им избежать этой реакции. Патогены могут ограничивать связывание с NLR адаптерного белка ASC или лигандов, таких как бактериальные полисахариды и токсины, двухцепочечная РНК или ДНК, мурамилпептиды, белки теплового шока, кристаллы мочевой кислоты и др. Патогены могут также модифицировать структуру лиганда или непосредственно блокировать функционирование инфламмосом [17].

В последние годы получены экспериментальные доказательства участия пироптоза и в гибели нормальных клеток. Описан ряд синдромов и заболеваний, характеризующихся повышенным уровнем каспазы-1 и, как следствие, конститутивно активным пироптозом. В этот список входят как заболевания, вызванные редкими генетическими нарушениями, так и широко распространенные: сахарный диабет 2-го типа, атеросклероз, ишемия. Именно от гиперактивации пироптоза умирают пациенты с рассеянным склерозом [18]. Важную роль инфламмосомы играют в патогенезе подагры, которые активируются кристаллами мочевой кислоты в клетках ткани суставов [19].

Болезнь Альцгеймера, наиболее распространенная причина деменции, характеризуется клинически необратимой потерей синапсов и гибелью нейронов, которые обеспечивают клеточную основу памяти. Обычно она обнаруживается у людей старше 65 лет. Современные методы лечения болезни Альцгеймера умеренно эффективны и не препятствуют прогрессированию заболевания [20]. Болезнь Альцгеймера связывают с накоплением в тканях мозга  $\beta$ -амилоидного пептида, который является фрагментом более крупного белка-предшественника — APP.  $\beta$ -амилоидный пептид образует нерастворимые отложения, амилоидные бляшки, оказывающие разрушительное действие на нейроны. Интенсивные исследования этой болезни на молекулярном уровне позволили выявить, что  $\beta$ -амилоидный пептид активирует каспазу-1 и каскад реакций, запускающий пироптоз, что и приводит к гибели нейрона [21].

ВИЧ-инфекция — медленно прогрессирующее заболевание, вызываемое вирусом иммунодефицита

человека. В результате иммунная система угнетается, организм больного теряет возможность защищаться от инфекций и развивается СПИД. СПИД является терминальной стадией ВИЧ-инфекции. Общая продолжительность жизни ВИЧ-инфицированных больных, не получающих лечения, составляет в среднем 10 лет. В течение всего этого времени наблюдается постоянное снижение числа лимфоцитов в крови пациента, что в конечном итоге становится причиной смерти от вторичных инфекций. Следует отметить, что ВИЧ-инфекция часто сопровождается злокачественными опухолями: саркомой Капоши, раком шейки матки, раком толстой кишки, гепатоцеллюлярным раком, опухолями головы и шеи, раком легкого [22]. Лечение ВИЧ-инфицированных больных сегодня — антиретровирусная терапия в течение длительного периода времени. Недавно обнаружено, что 95 % случаев гибели иммунных клеток при ВИЧ-инфекции вызваны самоуничтожением клетки в результате активации пироптоза [23]. В цитозоле ВИЧ-инфицированных клеток происходит накопление частиц провирусной ДНК, они связываются с белком IFI16, индуцируемым интерфероном- $\gamma$ , который, в свою очередь, активирует каспазу-1 и запускает гибель лимфоцитов CD4+ [24].

Уже известен как минимум один ингибитор каспазы-1, который продемонстрировал многообещающий результат в ранних клинических исследованиях. Это экспериментальный препарат белнаказан (VX-765) компании Vertex Pharmaceuticals. Препарат проходил клинические испытания в качестве средства для лечения пациентов с эпилепсией. Однако VX-765 у пациентов с эпилепсией оказался неэффективным, но безопасным. Группа ученых из США протестировала VX-765 на культуре ВИЧ-инфицированных клеток [25]. Результаты их исследования показали эффективное ингибирование каспазы-1 и значительное снижение гибели CD4-клеток у ВИЧ-инфицированных больных. Полученные ими данные позволяют рассматривать вопрос о возможности нового терапевтического подхода в лечении ВИЧ-инфицированных больных. Следует отметить, что VX-765 обладает рядом преимуществ перед препаратами антиретровирусной терапии. Ингибитор каспазы-1 будет воздействовать на белок хозяина, а не на наследственный аппарат вируса, и вероятность развития резистентности вируса к VX-765 будет минимальной.

Несомненный интерес представляют также недавние исследования о возможном использовании VX-765 при ВИЧ-опосредованных неврологических нарушениях. Известно, что из ВИЧ-инфицированных клеток высвобождается вирусный белок R (Vpr). В спинномозговой жидкости ВИЧ-инфицированных больных этот белок определяется в наномолярных концентрациях. Недавно E.L. Asahchop и соавт. показали, что Vpr индуцирует пироптоз в клетках микроглии человека [26]. В экспериментальной модели на Vpr-трансгенных мышах VX-765 подавлял экспрессию компонентов инфламмосомы NLRP3 и заметно снижал уровень IL-1 $\beta$  [27]. Авторы предполагают, что VX-765 будет препятствовать развитию Vpr-индуцированных неврологических нарушений у ВИЧ-инфицированных больных.

Активация пироптоза лежит в основе и некоторых метаболических расстройств, например сахарного диабета 2-го типа. Высокий уровень IL-1 $\beta$  и IL-18 угнетает секрецию инсулина. Поглощение клетками глюкозы уменьшается, и наступает состояние, известное как резистентность к инсулину. С другой стороны, IL-1 $\beta$  индуцирует разрушение  $\beta$ -клеток поджелудочной железы [28].

Открытие инфламмасом, медиаторов пироптоза, и получение экспериментального подтверждения того, что они являются ключевыми регуляторами секреции IL-1 $\beta$  и IL-18, позволили в последующих исследованиях обосновать ведущую роль инфламмасом в развитии многих заболеваний, начиная от атеросклероза до подагры и СПИДа. К сожалению, недостаточно изучены механизмы активации компонентов и сборки инфламмасы, не всегда понятны критерии их взаимодействия с другими сигнальными путями или другими типами запрограммированной гибели клетки. Несмотря на то что ингибирование пироптоза при этих патологических состояниях выглядит многообещающим, всегда остается вопрос, не приведет ли ингибирование пироптоза к тому, что организм станет беззащитен к другим инфекциям? Безусловно, дальнейшие исследования дадут ответ на этот и другие вопросы, а пока имеющиеся данные вселяют надежду на серьезный прорыв в лечении ингибиторами пироптоза ВИЧ-инфекции и болезни Альцгеймера.

## ПИРОПТОЗ ПРИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Огромный прогресс, достигнутый за последние десятилетия в изучении индукции апоптоза в опухолевых клетках, позволил не только выяснить детали механизмов, лежащих в основе запрограммированной гибели клетки, но и создать средства для борьбы с раком. Понимание ключевых молекулярных механизмов утраты чувствительности опухолевых клеток к апоптозу, вызываемой терапевтическими воздействиями, имеет существенный потенциал для практической онкологии. Это является основным, но не единственным определяющим фактором в лечении рака. Элиминировать опухолевую клетку, резистентную к апоптозу, можно активацией других типов запрограммированной гибели клетки. Как отмечалось ранее, сборка и активация инфламмасы могут индуцироваться двумя независимыми путями: каноническим и неканоническим. Канонический путь предполагает сборку инфламмасы в ответ на цитоплазматический сигнал. В этом случае участвует каспаза-1. Неканонический путь сборки инфламмасы стимулируется липополисахаридами (компонентами бактериальной клеточной стенки) и активируется каспазой-4, -5 или -11. И тот, и другой путь сборки и активации инфламмасы наряду с некроптозом служат важным фактором элиминирования инфицированных клеток.

Сегодня мы практически ничего не знаем о механизмах инициации и сборки инфламмасы в опухолевых клетках. Немногочисленные публикации в этой

области указывают на то, что пироптоз в опухолевых клетках заблокирован. При раке простаты, желудка, молочной железы, плоскоклеточном раке полости рта и колоректальном раке отмечается крайне низкая экспрессия каспазы-1 [29]. Низкая экспрессия компонентов инфламмасы NLRP3 наблюдается и при раке печени [30]. У пациентов с гепатоцеллюлярным раком (ГЦР) также низкая экспрессия компонентов инфламмасы NLRP3, а это указывает на то, что пироптоз может вовлекаться в патогенез заболевания [31].

Результаты индукции пироптоза агентами небактериальной природы в опухолевых клетках, полученные за последние 2 года, представляют чрезвычайную ценность. Недавно появилось сообщение, что алкалоид берберин, производное изохинолина, может стать перспективным препаратом в лечении рака [31]. В клетках ГЦР (HepG2) берберин увеличивал экспрессию как мРНК, так и белка каспазы-1. Повышение уровня каспазы-1 сопровождалось заметным снижением числа опухолевых клеток. Берберин ингибировал также миграцию и инвазию HepG2-клеток. Эти результаты были подтверждены в экспериментальной модели опухоли у мышей: берберин значительно снижал объем опухоли. Таким образом, при ГЦР пироптоз инактивирован, а берберин реактивирует эту программу и вызывает массовую гибель опухолевых клеток.

Несколько неожиданными оказались результаты исследований роли пироптоза в прогрессировании резистентных к терапии опухолей. На модели колоректального рака с метастазами в печени показано, что активация инфламмасы NLRP3 эуксантоном, производным ксантона, выделенным из *Polygala caudate*, снижает объем опухоли и блокирует формирование метастазов [32]. В экспериментах *in vitro* на культуре клеток эуксантон повышал экспрессию каспазы-1 и уровень IL-1 $\beta$  и IL-18.

Плоскоклеточный рак слизистой оболочки полости рта является одним из наиболее распространенных видов рака. Недавно было показано, что антоциан, представитель окрашенных растительных гликозидов, относящихся к флавоноидам, индуцирует гибель клеток плоскоклеточного рака полости рта. Исследование механизмов действия антоциана выявило, что он активирует экспрессию каспазы-1 и повышает уровень IL-1 $\beta$ . Ингибитор каспазы-1 полностью нивелировал эффект антоциана [33], что подтверждало участие пироптоза в гибели опухолевых клеток.

Для рака молочной железы (РМЖ) характерен низкий уровень инфильтрации лимфоцитами. РМЖ — это неиммуногенная опухоль. Тем не менее группе ученых из США удалось обойти резистентность к иммунотерапии и активировать иммунный ответ в клетках РМЖ агонистом RIG-I (гена I, индуцируемого ретиноевой кислотой). RIG-I является внутриклеточным рецептором, участвующим в распознавании вирусов системой врожденного иммунитета организма. Авторы наблюдали высокий иммуногенный и терапевтический эффекты, вызываемые агонистом RIG-I в клетках РМЖ [34]. В другом исследовании пироптоз в клетках РМЖ был индуцирован докозагексаеновой кислотой (ДГК)

[35]. В клетках линии MDA-MB-231, полученных из метастаза больной тройным негативным РМЖ, ДГК снижала пролиферацию на 30–40 %. Авторы приводят экспериментальное подтверждение повышения экспрессии каспазы-1 и белка GSDM-D в ответ на ДГК. В экспериментах *in vitro* ДГК также повышала уровень IL-1 $\beta$ . Несмотря на успехи в лечении РМЖ, обусловленные ранней диагностикой, опухоль остается второй причиной смертности у женщин. Результаты исследований, направленных на активацию пироптоза в клетках РМЖ, представляют огромную ценность для терапии опухоли.

Согласно последним данным, запуск пироптоза в опухолевых клетках осуществляется через ген *POLA1*, который ответствен за кодирование каталитической субъединицы ДНК-полимеразы  $\alpha$ , участвующей в инициации репликации ДНК. Афидиколин — тетрациклиновый антибиотик, выделенный из гриба *Cephalosporium aphidicola*, первый фармакологический ингибитор ДНК-полимеразы  $\alpha$ . Клинические исследования афидиколина как противоопухолевого агента показали его эффективность [36]. Недавно продемонстрировано, что ретиноид CD437 ингибировал активность рекомбинантного белка POLA1 *in vitro*, а также репликацию ДНК в опухолевых клетках [37]. Позднее была показана активность CD437 в отношении клеток рака яичников, немелкоклеточного рака легкого, РМЖ, плоскоклеточного рака легкого и лейкозов [38]. На моделях ксенографтов мыши CD437 обуславливал замедление роста привитых опухолей [39]. Интересно отметить, что CD437 не вызывает гибели неопухолевых клеток. Это говорит о том, что ДНК-полимераза  $\alpha$  не является прямой мишенью CD437. Ретиноид регулирует активность полимеразы опосредованно через другие белки. По всей видимости, это опухоль-ассоциированные белки.

В литературе мало информации о роли пироптоза в прогрессировании опухоли. Практически ничего неизвестно о механизмах, блокирующих пироптоз при раке. Тем не менее представленные немногочисленные экспериментальные данные позволяют поднимать вопрос об активации пироптоза в опухолевых клетках как о многообещающем подходе в терапии злокачественных опухолей.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Накопленные в литературе данные о механизмах цитотоксического действия противоопухолевых препаратов и ионизирующего излучения свидетельствуют о том, что эти воздействия активируют в опухолевых клетках в основном апоптоз. Интересно отметить, что спонтанный апоптоз, несмотря на недостаток питания и кислорода в опухоли, крайне низок, а противоопухолевые воздействия обычно вызывают апоптоз в 15–20 % опухолевых клеток.

Как упоминалось выше, при пироптозе происходит лизис опухолевой клетки и высвобождение ее содержимого в межклеточное пространство. Локальное воспаление, вызванное выбросом провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$  и IL-18, сопровождается привлечением клеток иммунной системы к первичной опухоли. Основной функцией IL-1 $\beta$  является иницирование

иммунного ответа [40]. IL-18 занимает особое место в противоопухолевом иммунитете. Обладая способностью стимулировать продукцию интерферона- $\gamma$ , гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора, Fas/FasL, IL-18 участвует в активации цитотоксических лимфоцитов, естественных киллеров и дендритных клеток [41]. Таким образом, индукция пироптоза в опухолевых клетках будет сопровождаться активацией врожденного иммунитета. С другой стороны, активироваться будет и приобретенный иммунитет. Дендритные клетки будут захватывать фрагменты лизированных клеток, что обеспечит презентацию опухоль-ассоциированных антигенов эффекторам противоопухолевого иммунитета. Интересно отметить, что IL-18 также ингибирует формирование кровеносных сосудов в опухоли [42]. Таким образом, активация пироптоза в опухолевых клетках будет способствовать их лизису и активированию как врожденного, так и приобретенного иммунитета. Результаты последних клинических исследований подтверждают необычайную эффективность комбинированной терапии, когда цитотоксическое противоопухолевое лечение дополняется локальной активацией иммунной системы [43].

До настоящего времени в клинике нет препарата, индуцирующего пироптоз в опухолевых клетках, не зарегистрированы и клинические исследования. Данные, суммированные в этом небольшом обзоре, предполагают, что усиление иммунного ответа привлечением иммунокомпетентных клеток к первичной опухоли и ее метастазам в сочетании с существующими противоопухолевыми лекарственными средствами позволит улучшить эффективность лечения онкологических больных.

---

## КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

---

## ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование не имело спонсорской поддержки.

---

## ВКЛАД АВТОРОВ

**Концепция и дизайн:** все авторы.

**Сбор и обработка данных:** все авторы.

**Предоставление материалов исследования:** все авторы.

**Анализ и интерпретация данных:** все авторы.

**Подготовка рукописи:** все авторы.

**Окончательное одобрение рукописи:** все авторы.

---

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Zychlinsky A, Prevost MC, Sansonetti PJ. *Shigella flexneri* induces apoptosis in infected macrophages. *Nature*. 1992;358(6382):167–9. doi: 10.1038/358167a0.
2. Brennan MA, Cookson BT. *Salmonella* induces macrophage death by caspase-1-dependent necrosis. *Mol Microbiol*. 2000;38(1):31–40. doi: 10.1046/j.1365-2958.2000.02103.x.

3. Cookson BT, Brennan MA. Pro-inflammatory programmed cell death. *Trends Microbiol.* 2001;9(3):113–4. doi: 10.1016/S0966-842X(00)01936-3.
4. Li P, Allen H, Banerjee S, et al. Mice deficient in IL-1 beta-converting enzyme are defective in production of mature IL-1 beta and resistant to endotoxin shock. *Cell.* 1995;80(3):401–11. doi: 10.1016/0092-8674(95)90490-5.
5. Yuan YY, Xie KX, Wang SL, et al. Inflammatory caspase-related pyroptosis: mechanism, regulation and therapeutic potential for inflammatory bowel disease. *Gastroenterology Report.* 2018;6(3):167–76. doi: 10.1093/gastro/goy011.
6. Doitsh G, Cavrois M, Lassen KG, et al. Abortive HIV infection mediates CD4 T cell depletion and inflammation in human lymphoid tissue. *Cell.* 2010;143(5):789–801. doi: 10.1016/j.cell.2010.11.001.
7. Franchi L, Warner N, Viani K, et al. Function of Nod-like receptors in microbial recognition and host defense. *Immunol Rev.* 2009;227(1):106–28. doi: 10.1111/j.1600-065x.2008.00734.x.
8. Bortolucci KR, Medzhitov R. Control of infection by pyroptosis and autophagy: role of TLR and NLR. *Cell Mol Life Sci.* 2010;67(10):1643–51. doi: 10.1007/s00018-010-0335-5.
9. Lamkanfi M, Dixit V. Mechanisms and functions of inflammasomes. *Cell.* 2014;157(5):1013–22. doi: 10.1016/j.cell.2014.04.007.
10. Man SM, Karki R, Kanneganti TD. Molecular mechanisms and functions of pyroptosis, inflammatory caspases and inflammasomes in infectious diseases. *Immunol Rev.* 2017;277(1):61–75. doi: 10.1111/imr.12534.
11. Malireddi RK, Ippagunta S, Lamkanfi M, et al. Cutting edge: proteolytic inactivation of poly(ADP-ribose) polymerase 1 by the Nlrp3 and Nlr4 inflammasomes. *J Immunol.* 2010;185(6):3127–30. doi: 10.4049/jimmunol.1001512.
12. Kovacs SB, Miao EA. Gasdermins: Effectors of Pyroptosis. *Trends Cell Biol.* 2017;27(9):673–84. doi: 10.1016/j.tcb.2017.05.005.
13. Feng S, Fox D, Man SM. Mechanisms of Gasdermin Family Members in Inflammasome Signaling and Cell Death. *J Mol Biol.* 2018;430(18):3068–80. doi: 10.1016/j.jmb.2018.07.002.
14. Prajwal G, Lukens JR, Thirumala-Devi K. Mitochondria: diversity in the regulation of the NLRP3 inflammasome. *Trends Mol Med.* 2015;21(3):193–201. doi: 10.1016/j.molmed.2014.11.008.
15. Yu J, Nagasu H, Murakami T, et al. Inflammasome activation leads to Caspase-1-dependent mitochondrial damage and block of mitophagy. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2014;111(43):15514–9. doi: 10.1073/pnas.1414859111.
16. Diamond CE, Khameh HJ, Brough D, et al. Novel perspectives on non-canonical inflammasome activation. *Immunotargets Ther.* 2015;4:131–41. doi: 10.2147/ITT.S57976.
17. Lamkanfi M, Dixit VM. Modulation of inflammasome pathways by bacterial and viral pathogens. *J Immunol.* 2011;187(2):597–602. doi: 10.4049/jimmunol.1100229.
18. Strowig T, Henao-Mejia J, Elinav E, et al. Inflammasomes in health and disease. *Nature.* 2012;481(7381):278–86. doi: 10.1038/nature10759.
19. Rashidi M, Simpson DS, Hempel A, et al. The Pyroptotic Cell Death Effector Gasdermin D Is Activated by Gout-Associated Uric Acid Crystals but Is Dispensable for Cell Death and IL-1 $\beta$  Release. *J Immunol.* 2019;203(3):736–48. doi: 10.4049/jimmunol.1900228.
20. Sahoo AK, Dandapat J, Dash UC, et al. Features and outcomes of drugs for combination therapy as multi-targets strategy to combat Alzheimer's disease. *J Ethnopharmacol.* 2018;215:42–73. doi: 10.1016/j.jep.2017.12.015.
21. Freeman LC, Ting JP. The pathogenic role of the inflammasome in neurodegenerative diseases. *J Neurochem.* 2016;136(Suppl 1):29–38. doi: 10.1111/jnc.13217.
22. Corrigan KL, Wall KC, Bartlett JA, et al. Cancer disparities in people with HIV: A systematic review of screening for non-AIDS-defining malignancies. *Cancer.* 2019;125(6):843–53. doi: 10.1002/cncr.31838.
23. Doitsh G, Galloway NL, Geng X, et al. Cell death by pyroptosis drives CD4 T-cell depletion in HIV-1 infection. *Nature.* 2014;505(7484):509–14. doi: 10.1038/nature12940.
24. Monroe KM, Yang Z, Johnson JR, et al. IFI16 DNA sensor is required for death of lymphoid CD4 T cells abortively infected with HIV. *Science.* 2014;343(6169):428–32. doi: 10.1126/science.1243640.
25. Wannamaker W, Davies R, Namchuk M, et al. VX-765, an orally available selective interleukin (IL)-converting enzyme/caspase-1 inhibitor, exhibits potent anti-inflammatory activities by inhibiting the release of IL-1 $\beta$  and IL-18. *J Pharmacol Exp Ther.* 2007;321(2):509–16. doi: 10.1124/jpet.106.11344.
26. Asahchop EL, Meziane O, Mamik MK, et al. Reduced antiretroviral drug efficacy and concentration in HIV-infected microglia contributes to viral persistence in brain. *Retrovirology.* 2017;14(1):47. doi: 10.1186/s12977-017-0370-5.
27. Mamik MK, Hui E, Branton WG, et al. HIV-1 Viral Protein R Activates NLRP3 Inflammasome in Microglia: Implications for HIV-1 Associated Neuroinflammation. *J Neuroimmune Pharmacol.* 2017;12(2):233–48. doi: 10.1007/s11481-016-9708-3.
28. Vandanmagsar B, Youm Y, Ravussin A, et al. The NLRP3 inflammasome instigates obesity-induced inflammation and insulin resistance. *Nat Med.* 2011;17(2):179–88. doi: 10.1038/nm.2279.
29. Nagarajan K, Soundarapandian K, Thorne RF, et al. Activation of Pyroptotic Cell Death Pathways in Cancer: An Alternative Therapeutic Approach. *Transl Oncol.* 2019;12(7):925–31. doi: 10.1016/j.tranon.2019.04.010.
30. Luan J, Ju D. Inflammasome: A Double-Edged Sword in Liver Diseases. *Front Immunol.* 2018;9:2201–9. doi: 10.3389/fimmu.2018.02201.
31. Chu Q, Jiang Y, Zhang W, et al. Pyroptosis is involved in the pathogenesis of human hepatocellular carcinoma. *Oncotarget.* 2016;7(51):84658–65. doi: 10.18632/oncotarget.12384.
32. Place DE, Kanneganti TD. Recent advances in inflammasome biology. *Curr Opin Immunol.* 2018;50:32–8. doi: 10.1016/j.coi.2017.10.011.
33. Wang H, Luo Q, Feng X, et al. NLRP3 promotes tumor growth and metastasis in human oral squamous cell carcinoma. *BMC Cancer.* 2018;18(1):500–12. doi: 10.1186/s12885-018-4403-9.
34. Elion DL, Jacobson ME, Hicks DJ, et al. Therapeutically Active RIG-I Agonist Induces Immunogenic Tumor Cell Killing in Breast Cancers. *Cancer Res.* 2018;78(21):6183–95. doi: 10.1158/0008-5472.can-18-0730.
35. Pizato N, Luzete BC, Kiffer LV, et al. Omega-3 docosahexaenoic acid induces pyroptosis cell death in triple-negative breast cancer cells. *Sci Rep.* 2018;8(1):1952–60. doi: 10.1038/s41598-018-20422-0.
36. Baranovskiy AG, Babayeva ND, Suwa Y, et al. Structural basis for inhibition of DNA replication by aphidicolin. *Nucl Acids Res.* 2014;42(22):14013–21. doi: 10.1093/nar/gku1209.
37. Han T, Goralski M, Capota E, et al. The antitumor toxin CD437 is a direct inhibitor of DNA polymerase  $\alpha$ . *Nat Chem Biol.* 2016;12(7):511–5. doi: 10.1038/nchembio.2082.
38. Gutteridge RE, Ndiaye MA, Liu X, et al. PI3K Inhibitors in Cancer Therapy: From Laboratory to Clinics. *Mol Cancer Ther.* 2016;15(7):1427–35. doi: 10.1158/1535-7163.mct-15-0897.
39. Liu X. Targeting Polo-Like Kinases: A Promising Therapeutic Approach for Cancer Treatment. *Transl Oncol.* 2015;8(3):185–95. doi: 10.1016/j.tranon.2015.03.010.
40. Konjevic GM, Vuletic AM, Mirjagic Martinovic KM, et al. The role of cytokines in the regulation of NK cells in the tumor environment. *Cytokine.* 2019;117:30–40. doi: 10.1016/j.cyto.2019.02.001.
41. Nakanishi K. Unique Action of Interleukin-18 on T Cells and Other Immune Cells. *Front Immunol.* 2018;9:763. doi: 10.3389/fimmu.2018.00763.
42. Cao R, Farnebo J, Kurimoto M, et al. Interleukin-18 acts as an angiogenesis and tumor suppressor. *FASEB J.* 1999;13(15):2195–202. doi: 10.1096/fasebj.13.15.2195.
43. Li A, Yi M, Qin S, et al. Prospects for combining immune checkpoint blockade with PARP inhibition. *J Hematol Oncol.* 2019;12(1):98. doi: 10.1186/s13045-019-0784-8.