

**ЭКЗОГЕННЫЙ
8-ОКСО-7,8-ДИГИДРО-2'-ДЕЗОКСИГУАНОЗИН:
БИМЕДИЦИНСКИЕ СВОЙСТВА,
МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ,
ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ**

©2017 г. А. В. ЧЕРНИКОВ¹, С. В. ГУДКОВ^{2,3,4},
А. М. УСАЧЕВА¹, В. И. БРУСКОВ^{1,5}

¹ *Институт теоретической и экспериментальной биофизики
РАН, Пущино, Московская обл.*

² *Московский областной научно-исследовательский клинический
институт им. М.Ф. Владимирского (МОНКИ), Москва*

³ *Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, Москва*

⁴ *Нижегородский государственный университет
им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород*

⁵ *Пуцинский государственный естественно-научный институт,
Пущино, Московская обл.*

I. Введение. II. Биомедицинские свойства экзогенного 8-охо-dGuo, свободного 8-охо-G, окисленной внеклеточной ДНК. III. Механизмы действия экзогенного 8-охо-dGuo, свободного 8-охо-G, окисленной внеклеточной ДНК. IV. Медицинский потенциал экзогенного 8-охо-dGuo, свободного 8-охо-G, окисленной внеклеточной ДНК. V. Заключение.

I. ВВЕДЕНИЕ

В клетках живых организмов в результате процессов метаболизма постоянно образуются активные формы кислорода (АФК) и азота (АФА), в малых концентрациях выполняющие физиологические, в том числе сигнально-регуляторные, функции. Под действием факторов

Принятые сокращения: АФК – активные формы кислорода; вкДНК – внеклеточная ДНК; А – аденин; G – гуанин; 8-охо-G – 8-оксо-7,8-дигидрогуанин (8-охо-7,8-dihydroguanine, 8-hydroxyguanine); 8-охо-dGuo – 8-оксо-7,8-дигидро-2'-дезоксигуанозин (8-охо-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine, 8-hydroxydeoxyguanosine); 8-охо-Guo – 8-оксо-7,8-дигидрогуанозин (8-охо-7,8-dihydroguanosine, 8-hydroxyguanosine); BER – эксцизионная репарация оснований; DAMP – молекулярные паттерны повреждения; MAPK – митоген-активируемые протеинкиназы; OGG1 – 8-оксогуанин-ДНК-гликозилаза 1; TLR – Toll-подобные рецепторы.

Адрес для корреспонденции: bruskov_vi@rambler.ru

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 17-44-500476-р_а)

окружающей среды (ионизирующие и неионизирующие излучения, токсины, ксенобиотики и др.) АФК/АФА могут образовываться в количествах, превышающих защитные возможности антиоксидантных и репарационных систем организма (окислительный стресс), что приводит к повреждению биомолекул [1]. Известно более 30 продуктов окислительной модификации азотистых оснований нуклеиновых кислот, среди которых наиболее распространен и лучше других изучен 8-оксо-7,8-дигидрогуанин (8-oxo-7,8-dihydroguanine, 8-oxo-G). Впервые 8-оксо-7,8-дигидро-2'-дезоксигуанозин (8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine, 8-oxo-dGuo) был идентифицирован в начале 1980-х годов *in vitro* японскими исследователями [2, 3], и за последующие 30 лет свойствам и роли 8-oxo-dGuo в ДНК были посвящены тысячи публикаций. Гуанин (guanine, G) в ДНК, обладая самым низким среди природных азотистых оснований окислительно-восстановительным потенциалом (1,29 мВ относительно нормального водородного электрода, NHE [4]), легко окисляется в положении С8, образуя 8-oxo-G [5]. ОВП последнего еще ниже (0,74 мВ [4]), что приводит к его дальнейшему окислению до спироиминодигидантоина (Sp), иминоаллантаина (Ia) и гуанидиногидантоина (Gh) [6]. Образование 8-oxo-G (и продуктов его модификации) является наиболее распространенным видом окислительного повреждения нуклеиновых кислот [7], а 8-oxo-G считается одним из основных биомаркеров окислительного стресса [8]. Стационарный уровень 8-oxo-G в ядерной ДНК, согласно современным оценкам, составляет от 0,3 до 6 оснований на 10^6 гуаниновых остатков [9], а в митохондриальной ДНК – 1–3 основания на 10^5 G [10]. Ежедневно в клетке образуется, в среднем, 10^5 остатков 8-oxo-G [4, 11]. Показано, что 8-oxo-G обладает мутагенными свойствами, при репликации ДНК образуя в *syn*-конформации некорректную пару 8-oxo-G:A, что приводит к трансверсии типа G→T [12]. Поскольку окисление основания в 2'-дезоксигуанине приводит к упрочнению гликозидной связи [13], необходима ферментативная репарация такого повреждения. Преимущественно, 8-oxo-G распознается в двуспиральной ДНК и выщепляется из нее высокоспецифичной 8-оксогуанин-ДНК-гликозилазой (у эукариот – 8-oxoguanine DNA glycosylase 1, OGG1) по механизму эксцизионной репарации оснований (base excision repair, BER). Минорными путями репарации 8-oxo-G в ДНК являются эксцизионная репарация нуклеотидов (nucleotide excision repair, NER), репарация ошибочно спаренных нуклеотидов (mismatch repair, MMR), инцизионная репарация нуклеотидов (nucleotide incision repair, NIR) и коррекция ошибок спаривания (proof-reading) ДНК-

полимеразами [14]. MMR осуществляет гликозилаза MYH (*E.coli* MutY homolog), которая удаляет аденин из ошибочной пары 8-охо-G:A [15]. Цитоплазматический пул dGTP (в большей степени, чем G в ДНК, подверженный окислению) санируется высокоспецифичной гидролазой семейства Nudix (у человека – MTH1/2 (*E.coli* MutT homolog)), гидролизующей 8-охо-dGTP до 8-охо-dGDP, который последующему рефосфорилированию не подвергается. 8-Охо-dGDP дефосфорилируется до 8-охо-dGMP и далее до 8-охо-dGuo нуклеотидазой или фосфатазой [16]. Показано, что попавший в клетку извне 8-охо-dGuo не фосфорилируется до 8-охо-dGMP и не деградирует до 8-охо-G, т.е. не используется клеткой повторно для нуклеотидного синтеза [17, 18]. Клеточные мембраны легко проницаемы для 8-охо-dGuo, но непроницаемы для 8-охо-dGTP [19]. Выщепленный из ДНК 8-охо-G/8-охо-dGuo попадает в кровь и далее с мочой выводится из организма. Среднее фоновое значение концентрации 8-охо-G и 8-охо-dGuo, определенное методом жидкостной хроматографии–тандемной масс-спектрометрии (LC–MS/MS) у взрослых здоровых людей, составляет в плазме крови 0,21 и 0,016 нг/мл, в слюне – 0,85 и 0,01 нг/мл, в моче – 12,2 и 3,8 нг/мл соответственно [20]. Присутствующий в ДНК 8-охо-G, в отсутствие репарации, способен вызвать остановку клеточного цикла и апоптоз [21]. Подробнее вопросы ферментативной репарации окислительных повреждений ДНК, ее механизмы и биологические последствия рассмотрены в обзорных работах [22–24].

Если прежде окислительная модификация гуанина в ДНК и РНК рассматривалась исключительно как генотоксическое и мутагенное, а потому безусловно вредное, повреждение нуклеиновых кислот, то в последнее время такой взгляд подвергается переосмыслению [25, 26]. Полагают, что легкоокисляемые G и 8-охо-G в РНК и нетранскрибируемых частях геномной ДНК (в том числе в теломерах и прилегающих к ним участках) могут играть роль внутриклеточного антиоксиданта, буфера, перехватывающего высокореакционные свободные радикалы и демпфирующего их химическую активность. Известно, что в клетке содержится вчетверо больше РНК, чем ДНК, и в 30–70% мРНК детектируется 8-охо-G [27]. Организм млекопитающего, по-видимому, толерантен к высоким стационарным уровням 8-охо-G в геномной ДНК своих клеток: в гепатоцитах 14-месячных мышей, нокаутных по гену, кодирующему OGG1, содержание 8-охо-G в ядерной ДНК было выше в 7 раз, а в митохондриальной ДНК – в ~20 раз по сравнению с мышами дикого типа, что не приводило ни к дисфункции митохондрий, ни к увеличению частоты

новообразований в тканях [28]. Более того, мыши *Ogg1^{-/-}* проявляют устойчивость к развитию воспалительной реакции [29]. 8-Охо-G играет важную роль в релаксации хроматина и инициации транскрипции ДНК благодаря никующему действию OGG1 в процессе репарации 8-охо-G [30] и практически не препятствует (в отличие от 8-оксоаденина и тиминового гликоля) работе РНК-полимераз [31]. Представляется, что существует оптимальный, зависящий от типа ткани, внутриклеточный уровень геномного 8-охо-G, необходимый для нормального протекания физиологических процессов в организме [25].

II. БИМЕДИЦИНСКИЕ СВОЙСТВА ЭКЗОГЕННОГО 8-охо-dGuo, СВОБОДНОГО 8-охо-G, ОКИСЛЕННОЙ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК

БИМЕДИЦИНСКИЕ СВОЙСТВА ЭКЗОГЕННОГО 8-охо-dGuo

Долгое время изучались свойства и биологические функции только 8-охо-G/8-охо-dGuo, образующегося в биологических системах эндогенно, под действием АФК в условиях окислительного стресса. Лишь в последние годы предметом исследований становятся свойства, функции и механизмы действия экзогенного 8-охо-G/8-охо-dGuo, попадающего в клетку/организм извне. В пионерской работе 2004 года [32] южнокорейские авторы показали, что *in vitro* экзогенный 8-охо-dGuo (0,1–0,2 мМ) защищает dThd (свободный (0,01 мМ) и в составе олигодезоксинуклеотидов (1 мкМ)) от окислительной дегградации, а свехспирализованную кольцевую плазмидную ДНК – от разрыва цепи и релаксации при действии реактива Фентона (сульфат меди 0,1 мМ, аскорбиновая кислота 0,1 мМ, перекись водорода 5 мМ, Tris-HCl 10 мМ, рН 7,4, при 20 и 37°C в течение 20 и 120 мин соответственно). В качестве перехватчика гидроксильных радикалов 8-охо-dGuo оказался в ~2 раза эффективнее таких известных скевенджеров, как маннитол, формиат натрия, трет-бутиловый спирт, азид натрия и диметилсульфоксид (DMSO) [32]. В работе [33] для количественной оценки способности 8-охо-dGuo перехватывать ОН-радикалы был использован метод ЭПР. Реакция Фентона (сульфат железа 0,05 мМ, перекись водорода 1 мМ, фосфат натрия 50 мМ, рН 7,4, 37°C) в присутствии спиновой ловушки 5,5-диметилпирролин-N-оксида (DMPO; 1 мМ) сопровождалась генерацией характерного для комплекса DMPO-ОН сигнала, интенсивность которого 8-охо-dGuo (1–200 мкг/мл) дозозависимо уменьшал и элиминировал полностью при концентрации 5 мкг/мл (17,7 мкМ). В другой работе

[34] был проведен сравнительный анализ антиоксидантной активности 8-оксо-dGuo, 8-оксо-Guo, Тролокса (Tro), аскорбата (Asc), мочевой кислоты (UA), N-ацетил-L-цистеина (NAC) и супероксиддисмутазы (SOD) в нескольких модельных химических системах: окисление 2',7'-дихлорофлуоресцеина (DCHF) реактивом Фентона (хлорид железа 0,75 мМ, перекись водорода 6 мМ, фосфатно-солевой буфер pH 7,0, 37°C) **(a)** или пероксинитритом (0,5 мМ) **(b)**, окисление липопротеинов низкой плотности (LDL; 200 мкг белка/мл) синглетным кислородом **(c)**, ингибирование генерации супероксиданион-радикалов при окислении гипоксантина ксантинооксидазой **(d)**. Антиоксидантная активность соединений убывала в ряду:

- (a)** 8-оксо-dGuo > 8-оксо-Guo > Tro > NAC > UA > Asc (все 1 мМ);
- (b)** 8-оксо-dGuo > 8-оксо-Guo > Asc > NAC > UA > Tro (все 1 мМ);
- (c)** 8-оксо-dGuo > 8-оксо-Guo > Tro > NAC > Asc > UA (все 100 мкМ);
- (d)** SOD > Tro > 8-оксо-dGuo > 8-оксо-Guo (все 1 мМ).

Эти результаты позволили предположить, что 8-оксо-dGuo, попадающий *in vivo* в результате репарации ДНК в цитоплазму и далее в плазму крови и мочу, способен играть в организме положительную роль, проявляя, по-видимому, антиоксидантные свойства и защищая окружающие макромолекулы от повреждения радикалами.

8-Оксо-dGuo, подобно многим антиоксидантам и некоторым природным пуриновым нуклеозидам [35], проявляет радиозащитные свойства [36]. При пероральном введении (60 мг/кг) мышам линии C57Bl/J перед тотальным однократным γ -облучением в дозах 2–7 Гр, 8-оксо-dGuo уменьшал в спленоцитах генерацию АФК/АФА и уровень вызванных ими клеточных повреждений, в том числе снижал количество 3-нитротирозина в белках. В лимфоцитах селезенки наблюдалось падение содержания факторов транскрипции ядерный фактор каппа-B (nuclear factor κ -light-chain-enhancer of activated B cells, NF- κ B) и активаторный белок-1 (activator protein-1, AP-1), а также провоспалительных цитокинов, связанных с сигнальным каскадом трансформирующего ростового фактора- β (TGF- β).

Фотопротекторные свойства 8-оксо-dGuo исследовали *in vitro* на иммортализованных кератиноцитах человека линии HaCaT и *in vivo* на бесшерстных мышах SKH-1 [34]. 8-Оксо-dGuo добавляли к культуральной среде (15–30 мкг/мл) или наносили в составе мази (1 мг/мл) на дорсальный участок кожи животных за 1 ч до облучения ультрафиолетом средневолнового диапазона (UVB, 312 нм) в дозе 15 или 180 мДж/см² соответственно. В кератиноцитах, инкубированных с 8-оксо-dGuo, наблюдали дозозависимое уменьшение продукции АФК под действием UVB (до 2,5 раз), а также снижение стимулируемой АФК экспрессии белков: митоген-активируемых протеинкиназ

(mitogen-activated protein kinases, MAPK) (ERK, JNK, p38), факторов транскрипции (c-Jun, ATF-2) и матричных металлопротеиназ (MMP-1 и -9). У мышей к концу 2-х сут после облучения 8-охо-dGuo почти полностью нивелировал экзематозную реакцию кожи и гиперплазию эпидермиса, а в течение нескольких часов достоверно уменьшал генерацию в коже перекиси водорода, уровень белковых карбониллов, экспрессию некоторых MAPK (JNK, p38), факторов транскрипции (c-Jun, ATF-2) и MMP (MMP-9 и -13). 2'-Дезоксигуанозин (dGuo) в тех же концентрациях указанных эффектов не оказывал, либо они были пренебрежимо малы.

Антиоксиданты часто обладают противовоспалительным действием [37], поэтому было изучено влияние экзогенного 8-охо-dGuo на протекание патологических состояний и заболеваний, в генезе которых существенную роль играют процессы воспаления.

Антиаллергические и иммуносупрессивные эффекты 8-охо-dGuo исследовали на мышах, сенсibilизированных овальбумином [38, 39]. 8-Охо-dGuo вводили животным перорально (6–60 мг/кг) за 6 ч до повторного предъявления антигена, наблюдая при этом дозозависимое снижение сопротивления дыхательных путей, количества лейкоцитов в бронхо-альвеолярной лаважной жидкости (ЛЖ) (в т.ч. эозинофилов – до 2,5 раз), уровня антител IgE, специфичных к овальбумину, в сыворотке крови (до 2 раз), уменьшение степени выраженности гистологических признаков воспаления и реструктурирования легочной ткани (гипертрофии бронхиальных гладкомышечных клеток, гиперплазии секретирующих слизь бокаловидных клеток, отложения коллагена, лейкоцитарной инфильтрации перибронхиальных и периваскулярных областей). Выросшее на фоне аллергической реакции содержание провоспалительных цитокинов (интерлейкинов IL-4, -5, -13, интерферона- γ (IFN- γ), фактора некроза опухоли- α (TNF- α)) в ЛЖ дозозависимо уменьшалось (до 2 и более раз) под действием 8-охо-dGuo. Исползованный в тех же дозировках 8-охо-G указанным эффектом не вызывал, или же они были статистически недостоверными. Антиаллергическое действие 8-охо-dGuo наблюдалось также и при введении его мышам (30 мг/кг, перорально, ежедневно в течение 3-х сут) после развития аллергической реакции на овальбумин: в легочной ткани снижались отложение коллагена, фибронектина, ламинина и количество тучных и бокаловидных клеток, в плазме крови уменьшался титр специфичных к овальбумину IgE, в тучных клетках костного мозга снижалась экспрессия мРНК провоспалительных цитокинов и хемокинов сигнального пути NF- κ B/AP-1 (IL-4, -6, -13, TGF- β , TNF- α , RANTES, CCL5) [40]. Противовоспалительная

активность 8-охо-dGuo *in vivo* была изучена и на другой модели [19]. Мышам интраперитонеально (*i.p.*) вводили бактериальный липополисахарид (ЛПС), а за 4 ч до этого – 8-охо-dGuo (*i.p.*, до 60 мг/кг), который подавлял развитие индуцируемых ЛПС воспалительных реакций. В плазме крови, выделенной через 2 ч после введения ЛПС, 8-охо-dGuo дозозависимо уменьшал уровень провоспалительных цитокинов (IL-4, -18, -12p70, TNF- α) с эффективностью, равной или превышающей таковую ацетилсалициловой кислоты в той же концентрации. 8-Охо-Guo (60 мг/кг) снижал достоверно уровень только IL-18 и TNF- α , а эффекты dGuo и Guo были статистически недостоверны. 8-Охо-dGuo уменьшал нейтрофильную инфильтрацию легочной ткани и увеличивал до 40% выживаемость мышей к 36 ч после введения ЛПС в условиях развивающегося токсического шока (выживаемость в контроле – 0%, в группе мышей, получавших аспирин – 10%).

Антивоспалительные свойства 8-охо-dGuo проявляет в отношении нервной ткани, после введения ЛПС мышам в полосатое тело (стриатум) головного мозга и при добавлении ЛПС к культуре микроглиальных клеток линии BV2 *in vitro* [41, 42]. 8-Охо-dGuo, внесенный в стриятум за 1 ч до ЛПС, в течение 36 ч практически нормализовал в ткани экспрессию провоспалительных ферментов циклооксигеназы-2 (COX-2) и индуцибельной NO-синтазы (iNOS), а, добавленный в культуральную среду (до 100 мкг/мл), достоверно уменьшал в среде уровень IL-6, TNF- α , IFN- γ , а также снижал в клетках BV2 активность COX-2 в ~2 раза, уменьшал продукцию NO в ~2,7 раза, а образование АФК понижал дозозависимым образом с эффективностью, сопоставимой с таковой NAC в концентрации 10 мМ.

При остром экспериментальном аутоиммунном энцефаломиелите (ЭАЭ) у мышей, являющимся экспериментальной моделью рассеянного склероза, показана способность 8-охо-dGuo снижать показатели тяжести заболевания [43]. Введение 8-охо-dGuo (*i.p.*, 60 мг/кг) мышам в течение 5 сут после индукции ЭАЭ вызывало облегчение клинической симптоматики (уменьшение среднего клинического индекса болезни на ~20% по сравнению с контролем), в нервной ткани уменьшало количество (на ~25%) и активность тучных клеток, миграцию в ткань их циркулирующих предшественников и увеличивало популяцию иммуносупрессорных регуляторных Т-лимфоцитов (T_{reg}). В нервной ткани опытных мышей наблюдалось также снижение уровня экспрессии провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-6, -17), хемокинов (CCL2/CCR2), молекул клеточной адгезии (VCAM-1, PECAM-1) и лейкотриенов.

Атеросклеротическое поражение кровеносных сосудов с образованием атероматозных бляшек сопровождается хроническим воспалением интимы сосудов, миграцией и аномальной пролиферацией гладкомышечных клеток сосудистой стенки, – процессами, в регуляции которых участвуют сигнальные каскады, опосредуемые АФК [44]. В ДНК клеток, выделяемых из атеросклеротических бляшек человека (макрофаги, гладкомышечные и эндотелиальные клетки) регистрируется многократный рост уровня 8-охо-G по сравнению с клетками сосудистой стенки нормальных артерий [45]. Возможность анти-атеросклеротического действия экзогенного 8-охо-dGuo изучали на модели мышей, нокаутных по гену, кодирующему аполипопротеин E (ApoE), которым частично лигировали одну из общих сонных артерий, затем содержали на обогащенной липидами диете в течение 2 недель [46]. 8-Охо-dGuo вводили мышам перорально однократно ежедневно в дозе 30 мг/кг, начиная за 2 сут до наложения лигатуры. У опытных мышей наблюдали достоверное уменьшение площади бляшек и увеличение сосудистого просвета в дистальных отделах сонной артерии, небольшое (но статистически достоверное) уменьшение концентрации триглицеридов в плазме крови, снижение инфильтрации бляшек моноцитами/макрофагами и пенстыми клетками, уменьшение накопления в бляшках компонентов внеклеточного матрикса, достоверное уменьшение генерации клетками сосудистой стенки АФК, в том числе супероксид анион-радикалов.

Исследовано влияние экзогенного 8-охо-dGuo на протекание ряда заболеваний желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), в патогенезе которых ключевую роль играют окислительный стресс и воспаление [47]. Острый гастрит у крыс вызывали с помощью иммобилизационного водоиммерсионного стресса, частично погружая животных в тесных проволочных клетках в теплую воду на 10 ч [33]. В слизистой желудка стрессированных крыс наблюдались множественные очаги эрозии и ulcerации, кровоизлияний, отека, ишемического некроза. У животных, получивших 8-охо-dGuo (50 мг/кг) перорально однократно за 1 ч до инициации стресса, патологические изменения слизистой были достоверно менее выражены, а терапевтическая эффективность 8-охо-dGuo оказалась сопоставимой с таковой Ребамипида, широко используемого в клинической практике гастропротектора. На фоне 8-охо-dGuo в ткани слизистой желудка достоверно снижался уровень ряда провоспалительных цитокинов и сигнальных белков (TNF- α , фактор роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor, VEGF)). На модели хронического гастрита у мышей, индуцированного инфицированием бактериями *Helicobacter pylori* и

высокосолевого диеты, показано, что потребление 8-охо-dGuo с питьевой водой *ad libitum* приводит к существенному ослаблению признаков воспаления и атрофии слизистой желудка, а также предотвращает ее дисплазию и предраковую трансформацию [47]. Острый колит у мышей инициировали добавлением в питьевую воду в течение 1 недели сульфата декстрана (DSS; 5%), части животных ежедневно в течение этого срока также вводили 8-охо-dGuo (*i.p.*, 50–150 мг/кг) [48]. Воспаление толстого кишечника сопровождалось уменьшением веса мышей, сокращением длины кишечника, анальными кровотечениями и гематохезией, деструкцией слизистой оболочки и ростом содержания в ней медиаторов воспаления (COX-2, iNOS, TNF- α , IL-6). 8-Охо-dGuo дозозависимым образом (при больших концентрациях – статистически достоверно) снижал выраженность указанных патологических изменений в толстом кишечнике.

Хроническое системное воспаление лежит в основе метаболического синдрома (МС) у людей – комплекса гормональных и метаболических нарушений на фоне абдоминального ожирения, среди которых: изменение толерантности к глюкозе, инсулинорезистентность и компенсаторная гиперинсулинемия, гипертриглицеридемия и др. [49]. МС является фактором риска развития сахарного диабета 2-го типа (СД2) и сердечно-сосудистых заболеваний. Влияние экзогенного 8-охо-dGuo на развитие МС изучали на мышцах линий ККАу и db/db, генетически предрасположенных к ожирению и СД2 [50]. Мышам, начиная с 6-недельного возраста, ежедневно интрагастрально вводили 8-охо-dGuo (60 мг/кг) на протяжении 2 месяцев, каждые 2 недели отбирая биологические пробы для анализа. У контрольных мышей к 8-й неделе возникли и далее нарастали признаки метаболических расстройств: избыточный вес тела, повышенный уровень глюкозы и инсулина в крови натощак, дислипидемия (увеличенное содержание в плазме крови триглицеридов и холестерина LDL), стеатоз, рост концентрации в крови маркеров воспаления (TNF- α , IL-6, MMP-9) и падение концентрации адипонектина – противовоспалительного гормона жировой ткани. У животных, получавших 8-охо-dGuo, наблюдались достоверное снижение тяжести метаболических нарушений (гипергликемии, резистентности к инсулину, дислипидемии, морфологических нарушений печени) и подавление признаков системного воспаления (уменьшение содержания в крови провоспалительных цитокинов и увеличение содержания адипонектина).

Наличие связи между хроническим воспалением и возникновением злокачественных новообразований было отмечено еще в XIX веке

Рудольфом Вирховым. Сегодня считается, что воспаление опосредует до 20% случаев клинических форм рака, влияя на все фазы развития опухоли: мутагенез и нестабильность генома клеток с последующей их малигнизацией, подавление иммунного ответа организма, образование опухоли и ее рост, опухолевый ангиогенез и инвазивность, диссеминацию метастазов [51]. Учитывая противовоспалительные свойства 8-охо-dGuo и его структурное сходство с пуриновыми аналогами 6-тиогуанином (6-TG) и 6-меркаптопурином (6-тиоинозином), известными антиканцерогенными средствами, были исследованы возможные противоопухолевые эффекты экзогенного 8-охо-dGuo. Исследования *in vitro* показали [52], что инкубация клеток миелосаркомы человека линии KG-1 с 8-охо-dGuo (50–200 мкг/мл) в течение 96 ч приводила к резкому уменьшению количества жизнеспособных клеток в МТТ-тесте (до ~25% при наибольшей концентрации 8-охо-dGuo). Клетки линии KG-1 характеризуются отсутствием активности фермента OGG1 вследствие точечной мутации Arg(229)Gln в кодирующем его гене, при этом сохраняется нормальная активность других ферментов репарации 8-оксогуанина, МҮН и МТН1 [52, 53]. Клеточная гибель под действием 8-охо-dGuo происходит путем апоптоза, о чем свидетельствует рост числа гиподиплоидных (Sub-G₁) клеток и степени фрагментации ДНК в них, потеря клетками (до 40% от общего числа) трансмембранного потенциала митохондрий $\Delta\varphi_m$ и выход цитохрома *c* из митохондрий, снижение уровня антиапоптогенного белка BCL-2 и рост содержания в клетках каспаз 8, 9 и 3. Кроме того, 8-охо-dGuo способен блокировать рост клеток линии KG-1 в фазе G₁ клеточного цикла [54]. Опухолевые клетки других линий (H9, SEM-СМ3, Molt-4) с низкой активностью OGG1 также проявляли чувствительность к цитотоксическому эффекту экзогенного 8-охо-dGuo, тогда как лейкоэмические клетки линии с нормальной активностью фермента (U937) к действию 8-охо-dGuo были толерантны [52]. Исследования *in vivo* проводились на мышах с привитой опухолью миелолейкоза человека линий KG-1 и U937, которым вводили 8-охо-dGuo и dGuo в течение 2 недель (*i.p.*, 3,3–330 мг/кг/сут) [55]. 8-Охо-dGuo дозозависимым образом угнетал рост опухоли, индуцированной клетками KG-1, уменьшая объем опухоли (до ~3,5 раз по сравнению с контрольными мышами, которым вводили физиологический раствор) и ее вес (до ~3 раз), но не влиял на рост опухоли у мышей, инокулированных клетками U937. 2'-Дезоксигуанозин (dGuo) оказывал слабое, статистически недостоверное, ингибирующее действие в первом случае (KG-1) и не влиял на рост опухоли во втором (U937), а 6-TG (33 мг/кг/сут)

практически полностью тормозил опухолевую прогрессию в обоих случаях. В основе цитотоксического действия 8-охо-dGuo на клетки KG-1 *in vivo* лежат индукция апоптоза и блок клеточного цикла, о чем свидетельствуют рост содержания в них проапоптотических белков (каспазы 8, 9 и 3), гистологические признаки апоптоза, усиленная фрагментация ДНК, а также разнонаправленное изменение уровней белков-регуляторов скорости прохождения клетками цикла (уменьшение циклинов D3, E, киназ CDK2, 4 и увеличение ингибиторов циклин-зависимых киназ p16 и p27). В другой работе [48] изучали антиканцерогенные свойства экзогенного 8-охо-dGuo *in vivo* на модели рака толстой и прямой кишки, ассоциированного с язвенным колитом. Развитие колоректального рака у мышей вызывали инъекцией азоксиметана (АОМ; 10 мг/кг) и последующим содержанием животных в течение 1 недели на питьевой воде с 2,5% DSS. Следующие 20 недель мыши потребляли 8-охо-dGuo с пищей (50 и 100 мг/кг/сут). Показано, что на фоне приема 8-охо-dGuo у мышей уменьшается количество и размер формирующихся в толстой кишке опухолевых очагов, опухолевая прогрессия тормозится на стадии дисплазии и аденомы (в контроле без 8-охо-dGuo развивается аденокарцинома), в ткани достоверно снижается уровень ряда цитокинов, хемокинов и белков, связанных с воспалением (в частности, TNF- α , Р-селектина, моноцитарного хемотаксического белка-1 (MCP-1), матричных металлопротеиназ (MMP-2, -3, -9, -11), NADPH-оксидазы 4-го типа (NOX4), COX-2), уменьшается перекисное окисление липидов (содержание малонового диальдегида (MDA)) и степень экспрессии β -катенина – белка сигнального пути Wnt, участвующего в регуляции канцерогенеза.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СВОБОДНОГО 8-охо-G

Окисление гуанина ДНК до 8-охо-G посредством АФК (прежде всего, гидроксильных радикалов и синглетного кислорода, как наиболее реакционноспособных) и его последующая ферментативная репарация с помощью OGG1 приводят к образованию свободного внутриклеточного 8-охо-G. Хотя в растворе *in vitro* 8-охо-G играет роль антиоксиданта и сквенджера свободных радикалов [32], в биологических системах образующийся в результате репарации (либо вводимый в организм извне) свободный 8-охо-G, в отличие от 8-охо-dGuo, проявляет выраженные провоспалительные свойства. Выступая в качестве алармина, 8-охо-G запускает в организме защитные реакции, направленные на поддержание гомеостаза, прежде всего, стимулируя иммунную систему и активизируя реакции воспалительного характера.

При введении мышам 8-охо-G (50 нг/кг, интраназально) и последующем анализе полного транскриптома клеток легочной ткани методами секвенирования РНК и количественной ПЦР показано, что 8-охо-G вызывает селективное изменение экспрессии генов, связанных с различными внутриклеточными провоспалительными сигнальными путями и биологическими процессами [56]. Однократное введение 8-охо-G обуславливает активацию сигнальных каскадов, ведущих к усилению продукции цитокинов, хемокинов и интерлейкинов, ассоциированных с реакциями врожденного иммунитета и клеточного гомеостаза [57]. Многократное введение мышам 8-охо-G в той же дозировке приводит к увеличению числа транскриптов, участвующих в путях передачи кадгерин-, интегрин-, TGF- β - и Wnt-опосредуемых сигналов, сопряженных с реакциями биологической адгезии, межклеточной коммуникации, гистологической перестройки (ремоделирования) легочной ткани [58]. В контрольных экспериментах введение животным G, dGuo, 8-охо-dGuo, 8-охо-A, FaryG (2,6-diamino-4-hydroxy-5-formamidopyrimidine) не вызывало указанных эффектов [57, 58]. 8-Охо-G играет роль связующего звена между повреждающим действием агентов внешней среды и защитными реакциями организма воспалительного характера, направленными на поддержание постоянства внутренней среды организма.

ЭКЗОГЕННЫЙ 8-охо-dGuo, СВОБОДНЫЙ 8-охо-G И КЛЕТОЧНОЕ СТАРЕНИЕ

На культуре клеток китайского хомячка показан геропротекторный эффект экзогенного 8-охо-dGuo, зависящий от пролиферативного статуса культуры [59]. Добавление экзогенного 8-охо-dGuo (1–1000 нМ) к молодым клеткам (5 сут культивирования) не влияло на уровень 8-охо-G в клеточной ДНК, тогда как в «старых» клетках (17 сут) резко (в 4–5 раз) его снижало. Экзогенный 8-охо-dGuo (1 мкМ) вызывал уменьшение плотности культуры «старых» клеток.

Ежедневное внесение в культуральную среду диплоидных фибробластов легких человека (HDLF) и эмбриональных фибробластов легких мыши (MELF) 8-охо-G (но не G, dGuo, 8-охо-dGuo, FaryG, A, dAdo, 8-охо-A) в конечной концентрации 0,1–10 мкМ снижало пролиферацию клеток (вплоть до необратимой блокады клеточного цикла в фазе G₁) и ускоряло репликативное клеточное старение (достижение предела Хейфлика) [60]. В фибробластах происходило накопление липофусцина и ассоциированной со старением β -галактозидазы (SA- β Gal), но не наблюдалось ни укорочения теломер, ни увеличения частоты мутаций. Истощение в клетках пула OGG1 с помощью

малых интерферирующих РНК (siRNA) предотвращало ускоренное старение клеток, вызываемое 8-охо-G. В опытах *in vivo* мышам Balb/c вводили 8-охо-G интраназально многократно в дозе 0,5 мкг/кг, наблюдая в клетках легочной ткани активацию малых ГТФаз семейства Ras и дифференциальную экспрессию генов, связанных со старением и регуляцией клеточного цикла. Авторы работы полагают, что ускоренное клеточное старение под действием 8-охо-G в ходе репарации ДНК в условиях окислительного стресса может служить защитным механизмом, предотвращающим нежелательную пролиферацию клеток и снижающим риск их злокачественной трансформации и туморогенеза.

БИОМЕДИЦИНСКИЕ СВОЙСТВА ОКИСЛЕННОЙ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК

В последние годы наблюдается рост интереса к феномену внеклеточных нуклеиновых кислот (ДНК и РНК), свободно циркулирующих в плазме крови и других биологических жидкостях [61, 62], и, в том числе, к окисленной внеклеточной ДНК (вкДНК), содержащей 8-охо-G [63]. вкДНК может поступать в кровь в результате гибели клеток в тканях организма (апоптоз, некроз) и гибели клеток крови, вирусов, бактерий, а также вследствие спонтанного выделения живыми клетками экзосом и синтезированной *de novo* ДНК (метаболическая ДНК). вкДНК отличается от геномной ДНК наличием обогащенных метилированными CpG-динуклеотидами мотивов и одно-/двунитевых разрывов, ее физиологическая концентрация в сыворотке крови здоровых людей составляет 1–40 нг/мл [64]. У здоровых индивидуумов вкДНК, как правило, находится в связанном с клеточной поверхностью состоянии, размер фрагментов вкДНК в крови составляет ~23 (и более) т.п.о., содержание 8-охо-G во вкДНК, экстрагированной из среды культивирования нормальных эндотелиоцитов, составило <1 остатка 8-охо-G на 10^7 G; при хронических заболеваниях вкДНК в крови циркулирует свободно, обычно в виде нуклеосом или в составе везикул, размер фрагментов может как значительно уменьшаться (вплоть до 100 п.о.), так и увеличиваться, уровень 8-охо-G во вкДНК может возрастать на порядки величины, до 50–400 8-охо-G на 10^6 G [65, 66]. Показано, что в клетках человека различного происхождения (эндотелиальные клетки пуповинной вены (HUVES) [67], мезенхимальные стволовые клетки (MSC) [66], клетки карциномы молочной железы (MCF-7) [68]) при введении в инкубационную среду фрагментов геномной ДНК (20–50 нг/мл), окисленной *in vitro* и содержащей 8-охо-G, наблюдается значитель-

ный и быстрый (в течение ~30 мин), «взрывной» рост биосинтеза АФК с последующим его снижением до исходных (или более низких) значений, а также преходящий подъем числа одно- и двунитевых разрывов ДНК. Рост уровня АФК в клетках обеспечивается, в частности, кратным увеличением количества мРНК гена фермента NOX4 [67], что, в свою очередь, активирует редокс-чувствительный фактор транскрипции NRF2 (nuclear E2-related factor 2) и связанный с ним регуляторный каскад, который контролирует клеточный ответ на окислительный стресс (в т.ч. экспрессию генов *KEAP1*, *SOD1*, *BCL2*) и стимулирует работу клеточных антиоксидантных систем [66]. Инкубация фибробластов человека с окисленной *in vitro* ДНК (20 нг/мл, ~400 8-охо-G на 10⁶ G) вызывает выраженный адаптивный ответ клеток к последующему стрессорному воздействию (обедненная культуральная среда или облучение рентгеновскими лучами в дозе 1,2 Гр), повышая выживаемость фибробластов, уменьшая в них количество двунитевых разрывов ДНК, снижая число апоптотических клеток, стимулируя активность фактора транскрипции NRF2 и супрессируя – NF-κB, что приводит к двукратному уменьшению уровня продукции клетками провоспалительных цитокинов TNF-α и IL-6 [64]. Облучение в дозе 0,1 Гр, воздействие окисленной *in vitro* ДНК человека или вкДНК, выделенной из культуральной среды облученных клеток, вызывают в эндотелиоцитах HUVEC однотипные изменения в клеточной морфологии и в содержании АФК и NO, т.е. ДНК, содержащая 8-охо-G, оказывает на клетки действие, подобное «эффекту свидетеля (bystander effect)» [67, 69]. Ответ клетки на присутствие окисленной ДНК зависит от количества 8-охо-G в ней [67, 70], положения 8-охо-G в цепи, ее длины и нуклеотидной последовательности [71]. Окисление G внутри мотива CpG (т.е., наличие во вкДНК динуклеотида CpOxoG) может приводить, согласно данным различных авторов, как к усилению, так и к ослаблению активности окисленной ДНК [71-73]. Деградация окисленной ДНК до нуклеотидного уровня инактивирует ее иммуностимулирующий эффект на макрофаги мыши [71].

Митохондриальная ДНК (мтДНК) эукариот в большей степени, чем ядерная ДНК, подвержена окислению ввиду близости к дыхательной цепи – источнику АФК, отсутствию белков-гистонов и малой эффективности системы ферментативной репарации мтДНК, а потому фоновый уровень окисленных оснований в мтДНК в несколько раз превышает таковой в ядерной ДНК [74]. При трансфекции ЛПС-праймированных макрофагов костного мозга мышей содержащей 8-охо-G (до 5 нг/мл) окисленной мтДНК (2 мкг/мл) наблюдается

активация внутриклеточных инфламмасом и почти двукратный рост (по сравнению с интактной мтДНК) продукции клетками воспалительного интерлейкина IL-1 β , причем в присутствии в культуральной среде свободного 8-охо-dGuo (200 мкМ) эффект полностью ингибируется [75]. Как нативная, так и окисленная экстраклеточная мтДНК (7-10 мкг) оказывают иммуностимулирующее действие на плазмцитоподобные дендритные клетки (pDC) человека и мыши *in vitro* и *in vivo* соответственно, увеличивая генерацию этими лейкоцитами провоспалительных цитокинов и хемокинов (IL-8, TNF- α , CXCL1), причем стимулирующая активность содержащей 8-охо-G мтДНК существенно выше активности нативной мтДНК [76]. мтДНК нейтрофилов человека, окисленная АФК в процессе нетоза и содержащая 8-охо-G, проявляет провоспалительные свойства как *in vitro*, при ко-инкубации (250 нг) с моноклеарами периферической крови человека, усиливая экспрессию ими мРНК цитокинов IL-1 β , -6, TNF- α , так и *in vivo*, при парентеральном введении мышам (1 мкг), индуцируя гены, стимулируемые интерферонами (IFN-stimulated genes, ISG): *MX1*, *IRF7*, *IFIT1* [77]. Высокоочищенная нативная мтДНК ($A_{260}/A_{280} = 1,91$ и $A_{260}/A_{230} = 1,67$) не способна вызывать активацию нейтрофилов человека [78]. Показано, что внутрисуставное введение мышам свободной мтДНК (1–5 мкг) или 20-мерного олигонуклеотида, содержащего один остаток 8-охо-G (10 нмоль), но не свободной ядерной ДНК, приводит к развитию артрита [73, 79]. У подавляющего большинства больных ревматоидным артритом, в отличие от здоровых лиц, в синовиальной жидкости (СЖ) пораженных суставов детектируется внеклеточная мтДНК и 8-охо-dGuo (>1,5 нг/мл), причем уровень 8-охо-dGuo в СЖ положительно коррелирует с присутствием в крови больных ревматоидного фактора (РФ) – диагностического маркера и показателя риска развития системных проявлений заболевания [73, 79].

Поскольку как геномная, так и митохондриальная ДНК, выделенная из организмов различных биологических видов (человек, мышь, сельдь) и подвергнутая окислению посредством УФ-облучения, проявляет интерферогенные свойства *in vitro* в зависимости от содержания 8-охо-G в ДНК, по-видимому, ключевым фактором, определяющим провоспалительные свойства вкДНК, является степень ее окисления, но не источник происхождения [77].

III. МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ЭКЗОГЕННОГО 8-охо-dGuo, СВОБОДНОГО 8-охо-G, ОКИСЛЕННОЙ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК

МЕХАНИЗМЫ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ ЭКЗОГЕННОГО 8-охо-dGuo

Антивоспалительное действие 8-охо-dGuo реализуется различными путями. Прежде всего, 8-охо-dGuo является высокоэффективным сквенджером АФК, которые выполняют функции провоспалительных медиаторов в клетках различного типа [80]. Перехватывая АФК, 8-охо-dGuo не только предотвращает их непосредственное повреждающее действие на биомолекулы, но и блокирует ключевое звено некоторых провоспалительных сигнальных каскадов (например, АФК являются прямым стимулятором MAP-киназ (ERK, JNK, p38) в клетках, что приводит к активации фактора транскрипции AP-1 и, далее, усилению экспрессии генов матричных металлопротеиназ [81, 82]). Такой механизм противовоспалительного эффекта 8-охо-dGuo был показан на моделях фотоповреждения кожи и вызванного стрессом гастрита у мышей [33, 34]. На ряде клеточных моделей *in vitro*, а также на животных продемонстрирован другой важнейший универсальный механизм защитного действия 8-охо-dGuo, опосредуемый белками Rac (изоформами Rac1 и Rac2) [19, 33, 38, 41, 42, 50]. Rac (Rac related C3 botulinum toxin substrate), мономерные белки массой 20-30 кДа, в составе семейства ГТФаз Rho являются частью надсемейства малых GTP-связывающих белков (низкомолекулярных G-белков) Ras (Rat sarcoma viral oncogene homolog), активируются рядом агонистов, в т.ч. фосфатидилинозитол 3-киназой (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K), TNF- α , факторами роста, и участвуют в регуляции важнейших биологических процессов, включая клеточную миграцию, реорганизацию цитоскелета, адгезию, пролиферацию, апоптоз, туморогенез, экспрессию генов [83]. В клетке белки Rac функционируют в режиме молекулярного бинарного переключателя («switch»), осуществляя переходы между неактивной (GDP-связанной) и активной (GTP-связанной) конформациями. Этот процесс регулируется, в частности, с помощью белков-факторов обмена гуаниновых нуклеотидов (guanine-nucleotide exchange factors, GEF), которые облегчают замену GDP на GTP. GEF для Rac (Rac-GEF), к числу которых относятся белки VAV2, TIAM1, TRIO и др., катализируют диссоциацию GDP, модифицируя нуклеотид-связывающий сайт Rac. Именно активная форма Rac обеспечивает реализацию его биологических функций посредством транс-

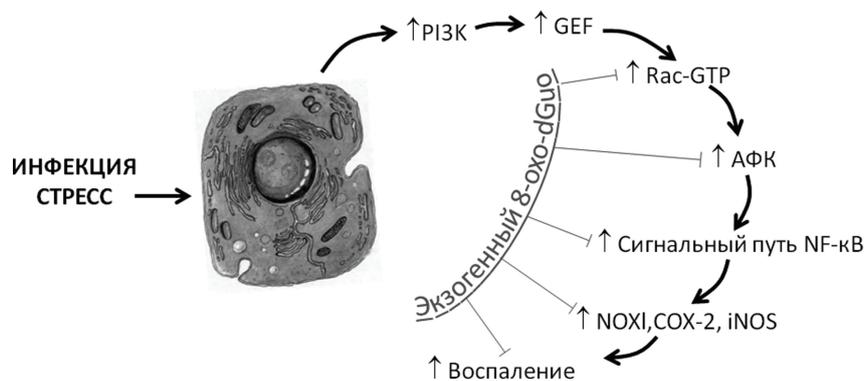


Рис. 1. Возможный механизм влияния экзогенного 8-охо-dGuo на воспалительный каскад, инициированный инфекцией/стрессом.

Под действием внешнего патогена биологической, химической или физической природы происходит последовательная активация киназы PI3K и белка Rac-GEF. Активированный Rac-GEF катализирует транслокацию GDP → GTP в нуклеотид-связывающем сайте Rac. Активированный Rac (Rac-GTP) стимулирует NOX, который генерирует АФК. Высокий уровень АФК активирует фактор транскрипции NF-κB, который усиливает экспрессию редокс-зависимых медиаторов воспаления – NOX1, COX-2, iNOS и др. 8-Охо-dGuo препятствует связыванию GTP с Rac, предположительно, путем конкурентного ингибирования, тем самым предотвращая разворачивание воспалительного каскада и опосредуемое окислительным стрессом повреждение тканей. Адаптировано из [33], с изменениями.

дукции сигнала с мембранных рецепторов и запуска Rac-зависимых сигнальных каскадов, молекулярными мишенями которых являются некоторые изоформы NOX, актин, протеинкиназы JNK и p38, фактор транскрипции NF-κB и др. [84]. Rac напрямую или посредством протеинкиназ JNK/p38 влияют на активность группы цитоплазматических переносчиков сигналов и активаторов транскрипции (*signal transducers and activators of transcription, STATs*), – полипептидов, которые играют важную роль в ответах клетки на стимуляцию провоспалительными цитокинами (IL-6, -10, -11, IFN-γ, онкостатин M и др.) и факторами роста (EGF, TGF, G-CSF, лептин и др.), а также в процессах клеточного канцерогенеза, вызываемых воспалением [85, 86]. Медиатором клеточного и органного ответов на максимально широкий спектр сигналов является STAT3 [87]. При действии на цитоплазматическую мембрану окислительных стрессоров (АФК, провоспалительные цитокины) в клетке запускается каскад реакций (рис. 1): активируется PI3K, которая, в свою очередь, активирует Rac-GEF, что приводит к уси-

лению связывания GTP в нуклеотид-обменивающем центре Ras. Активированный таким образом Ras стимулирует как NF-κB-, так и STAT3-зависимые сигнальные пути. В первом случае, Ras связывает субъединицу p67(phox) ферментного комплекса NOX, что резко усиливает продукцию ферментом АФК, которые активируют фактор транскрипции NF-κB и, тем самым, усиливают экспрессию провоспалительных генов *COX2*, *NOX1*, *iNOS* и др. Во втором случае, активированный Ras образует комплекс со STAT3, стимулирует его фосфорилирование по остаткам Tyr и Ser и индуцирует транскрипционную активность STAT3, что сопряжено с процессами канцерогенеза, обусловленного воспалением. Показано, что 8-охо-dGuo дозозависимым образом препятствует активации Ras, затрудняя его связывание с GTP, по-видимому, по механизму конкурентного ингибирования. При этом 8-охо-dGuo не влияет на функциональное состояние Ras-GEF и PI3K [33]. Методом молекулярного моделирования продемонстрировано, что 8-охо-dGuo хорошо соответствует топологии нуклеотид-связывающего сайта Ras1, образует водородные связи с прилежащими остатками аминокислот Lys116, Asp118 и Ala159, стабилизируя тройной комплекс Ras1•8-охо-dGuo•GEF и препятствуя диссоциации GEF, тем самым блокируя активацию Ras1 [46]. 8-Охо-dGuo более эффективен в подавлении активности Ras, чем 8-охо-Guo и 8-охо-GTP, тогда как у 8-охо-G, dGuo, Guo и Ado такая способность отсутствует [19, 38, 41, 88, 89].

МЕХАНИЗМЫ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ СВОБОДНОГО 8-охо-G

Провоспалительное действие 8-охо-G осуществляется также посредством малых ГТФаз (рис. 2). Показано, что свободный 8-охо-G, продукт эксцизионной репарации оснований, образует с высокой аффинностью (константа диссоциации $K_d \cong 0,56$ нМ) в цитоплазме комплекс с молекулой OGG1, связываясь с сайтом вне пределов активного каталитического центра фермента [90]. 8-Охо-G вызывает конформационное изменение OGG1, позволяющее комплексу OGG1•8-охо-G физически взаимодействовать с ГТФазами надсемейства Ras, активируя их путем облегчения замены GDP на GTP в нуклеотид-связывающем сайте белка, выполняя, тем самым, функции GEF [91]. Активированный (GTP-связанный) Ras освобождает OGG1•8-охо-G. По отдельности 8-охо-G и OGG1 не взаимодействуют с Ras, а связывание OGG1 с 8-охо-G высокоспецифично: 8-охо-dGuo, FapyG, G, 8-охо-A, мочевиная кислота не образуют комплекса с OGG1 [90, 92].

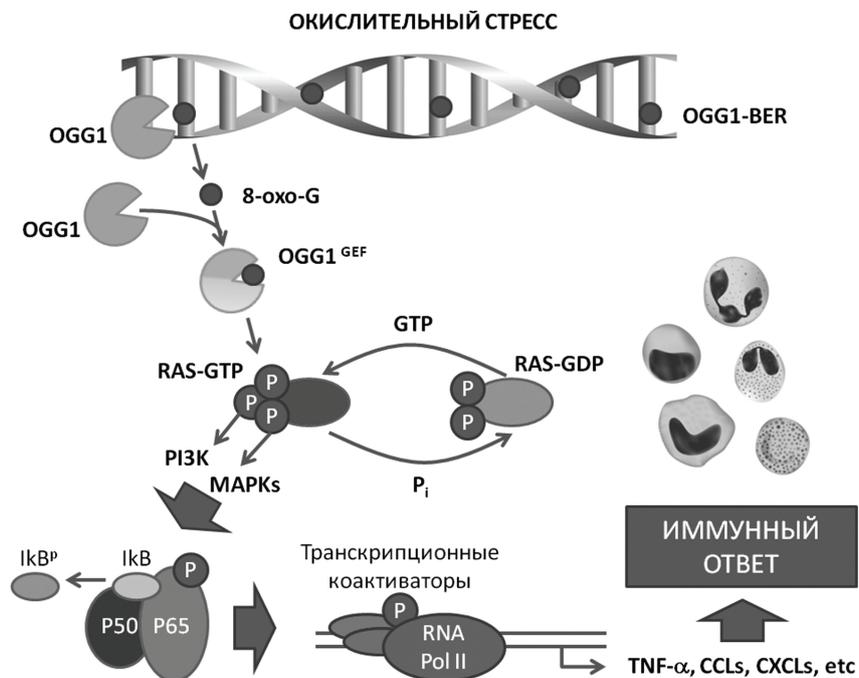


Рис. 2. Схематическое описание провоспалительного действия свободного 8-охо-G, образующегося при эксцизионной репарации оснований ДНК (BER) посредством OGG1. В условиях окислительного стресса в ДНК образуется 8-охо-G, репарируемый ДНК-гликозилазой OGG1. Свободный 8-охо-G поступает в цитоплазму, где связывается с OGG1 и образует комплекс OGG1•8-охо-G, который функционирует как GEF и активирует малые ГТФазы (Ras, Rho, Rac), стимулируя в них нуклеотидный обмен GDP→GTP. Активированные малые ГТФазы индуцируют экспрессию провоспалительных генов, обеспечивающих запуск и протекание реакций врожденного и приобретенного иммунитета. Адаптировано и изменено из [94]

Соединение OGG1 со свободным 8-охо-G усиливает AP-лиазную активность фермента [93]. ДНК-гликозилазы NEIL1 и NEIL2 (*Nei* endonuclease VIII-like DNA glycosylases), участвующие в репарации окисленных оснований во время репликации и транскрипции ДНК, не влияют на белки Ras. Увеличение уровня Ras-GTP вызывает как свободный 8-охо-G, образующийся в клетке эндогенно в результате репарации ДНК, так и вносимый извне, при этом минимальная концентрация 8-охо-G, необходимая для регистрации эффекта на культуре клеток линии MRC5, составляет 100 нМ [90]. При

интраназальном введении мышам раствора 8-охо-G, эффект наблюдается уже при дозе 5 нг/кг, потенциально достижимой *in vivo* во время эксцизионной репарации ДНК [94]. Функционирование OGG1•8-охо-G в качестве GEF продемонстрировано *in vitro*, *in cellulo* и на животных моделях некоторых легочных заболеваний [92]. К числу малых ГТФаз, которые способен активировать 8-охо-G, относятся «канонические» Ras (H-Ras (Harvey sarcoma viral oncogene homolog), K-Ras (Kirsten sarcoma viral oncogene homolog) и N-Ras (neuroblastoma Ras viral oncogene homolog)) [90, 91, 94], Rac1 [92] и RhoA (Ras homolog gene family, member A) [95]. Добавление к клеткам 8-охо-dGuo снижает в них уровень Rac1-GTP [92], что согласуется с полученными независимо результатами работ [19, 38, 41, 88].

Активация Ras запускает цепь передачи внутриклеточных сигналов через каскады, связанные с киназами PI3K и MSK1 (mitogen stress-related kinase 1), а также через трехкомпонентный митоген-активируемый протеинкиназный каскад путем последовательного фосфорилирования киназ RAF1 (virus-induced rapidly accelerated fibrosarcoma murine leukemia viral oncogene homolog 1), MEK1/2 (MAPK/ERK kinase 1/2), ERK1/2 (extracellular signal-regulated kinase 1/2) [90, 91, 94]. В результате активируется ИКК, киназа ингибитора ядерного фактора κ B (I κ B), происходит фосфорилирование I κ B, его убиквитинирование и протеасомальное расщепление с освобождением гомо- и гетеродимеров белков NF- κ B, включая RELA (p65), которые транслоцируются в ядро клетки. Активация транскрипционных факторов NF- κ B, вызванная Ras-GTP, приводит к усилению экспрессии клетками провоспалительных хемокинов (семейств C-C и C-X-C) и цитокинов (IL-1 β , TNF- α), накоплению в ткани нейтрофилов [94, 96].

Rac1-GTP является причиной кратковременного локального увеличения внутриклеточной генерации АФК (преимущественно H₂O₂) мембраносвязанной NOX4. Истощение Rac1 или NOX4 с помощью siRNA приводит к значительному снижению образования АФК по сравнению с контролем при добавлении 8-охо-G к клеткам [92]. Известно, что между повышенным уровнем АФК в ткани и индукцией воспалительной реакции существует причинно-следственная связь [97].

Активация RhoA вызывает усиление синтеза гладкомышечного актина (α -актина), его полимеризацию с образованием «стрессовых» фибрилл и увеличением фракции нерастворимого α -актина [95].

Таким образом, 8-охо-G посредством малых ГТФаз через сигнальные каскады Ras—киназы (MAPK, PI3K, MSK1)—NF-κB и Rac1—NOX4—АФК активирует в органах и тканях экспрессию провоспалительных медиаторов и реакции врожденного иммунитета. Полагают, что свободный 8-охо-G, постоянно образующийся в клетке при репарации окислительных повреждений ДНК, играет роль вторичного мессенджера, действующего синергично с сигнальными процессами, которые индуцирует окислительный стресс [98]. OGG1•8-охо-G, активируя Ras и последующие сигнальные пути, служат вторичным источником АФК, тем самым амплифицируя первичный редокс-сигнал и обеспечивая надежность включения реакций неспецифического иммунитета в ответ на действие внешних стимулов [99].

Примечательно, что ряд малых ГТФаз, включая Ras и Rho, содержат вблизи нуклеотид-связывающего сайта редокс-чувствительные мотивы, что позволяет АФК/АФА стимулировать реакцию нуклеотидного обмена (GDP→GTP), оказывая эффект, подобный действию GEF [100]. Возможно, сигнально-регуляторные функции АФК частично реализуется посредством малых ГТФаз [94].

Показано, что в клетках мышей, подвергнутых действию эндотоксина, OGG1 стимулирует развитие ответной воспалительной реакции, играя роль ко-активатора фактора транскрипции STAT1 и проявляя собственную транскрипционную активность, этим усиливая экспрессию провоспалительных медиаторов (COX-2 и iNOS) [101].

Не экспрессирующие OGG1 мыши *Ogg1*^{-/-} проявляют повышенную устойчивость к воспалению, вызываемому различными агентами (окислительный стресс, бактериальная инфекция, ЛПС, аллергены), и ослабленные реакции врожденного и приобретенного иммунитета [29, 94]. Слабая иммунная реакция на ЛПС у таких животных сопряжена со сниженным уровнем провоспалительных хемокинов/цитокинов в плазме крови, несмотря на признаки острого окислительного стресса в тканях. Напротив, мыши *Neil2*^{-/-} весьма восприимчивы к воспалению, индуцируемому ЛПС, окислительным стрессом, TNF-α, а истощение клеточного пула NEIL2 инициирует неспецифическое воспаление [102]. Таким образом, OGG1 оказывает провоспалительное, а NEIL2 – противовоспалительное действие, совместно поддерживая и балансируя воспалительный ответ клетки на действие внешних патогенов.

МЕХАНИЗМЫ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ
ОКИСЛЕННОЙ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК

Для реализации иммуностимулирующих эффектов окисленной ДНК, по-видимому, требуется ее взаимодействие с рецептором/сенсором на поверхности клеток или внутри их. Известны как мембранные ДНК-сенсоры (некоторые из Toll-подобных рецепторов (TLR)), так и цитоплазматические (белки RIG1, IFI16, AIM2, DAI и др.) [103]. Показано, что фрагменты ДНК, содержащие CpG-последовательности, способны связываться с рецептором TLR9, что ведет к активации фактора транскрипции NF-κB, синтезу провоспалительных цитокинов и хемокинов и к генерации АФК [104, 105]. TLR9 локализуется в эндолизомах, и в запуске инициируемого им каскада воспалительных реакций важную роль играет адаптерный белок MyD88 (*myeloid differentiation primary-response protein 88*) [106]. В первичных культивируемых макрофагах, полученных из селезенки мышей C57Bl/6 дикого типа, 20-мерный олигодезоксинуклеотид, содержащий остаток 8-охо-G, усиливал в ~2 раза продукцию TNF-α и IL-6, вызванную действием CpG-содержащих фрагментов ДНК, тогда как в макрофагах из мышей, нокаутных по гену, кодирующему TLR9 (*TLR9^{-/-}*), этот эффект полностью отсутствовал, что свидетельствует о прямом участии TLR9 в рецепции окисленной ДНК [71]. Инкубация в течение 3 ч эндотелиоцитов HUVEC с окисленной вкДНК, обогащенной CpG-динуклеотидами (~10 т.п.о., 50 нг/мл) приводила к кратному увеличению уровня экспрессии мРНК как белка TLR9 (эффект супрессировался блокатором TLR-рецепторов хлорохином), так и внутриклеточных сенсоров нуклеиновых кислот AIM2 и RIG1 [107]. Поскольку реакция клетки на окисленную ДНК зависит от уровня ее окислительной модификации, возможно, рецепцию окисленной ДНК осуществляет набор сенсоров, отличающихся способностью связывать окисленную ДНК, либо специализированный сенсор, различающий степень повреждения ДНК [67].

В мтДНК присутствуют неметилированные CpG-динуклеотиды, и, как было показано [108], у человека циркулирующая мтДНК способна посредством TLR9 стимулировать полиморфноядерные нейтрофилы, вызывая их миграцию и дегрануляцию, что провоцирует системное воспаление. У мышей мтДНК посредством TLR9 активирует в макрофагах сигнальный каскад MAP-киназы p38, усиливая продукцию провоспалительных цитокинов IL-1β, IL-6 и TNF-α [109], в кардиомиоцитах увеличивает уровень мРНК генов *IL1b* и *IL6* [110]. Воздействие мтДНК (как нативной, так и окисленной) на TLR9 подтверждается отменой иммуностимулирующего эффекта мтДНК

на лейкоциты (pDC) человека в присутствии специфичного конкурентного ингибитора TLR9, олигонуклеотида TTAGGG [76].

Другим механизмом реализации провоспалительных эффектов цитоплазматической и внеклеточной ДНК является активация инфламмасом [111]. Окисленная мтДНК, содержащая 8-охо-G, при апоптозе выходит в цитоплазму, где взаимодействует с инфламмасомами семейства NLRP3 (nucleotide binding domain and leucine-rich repeat pyrin domain containing 3), ответственными за реакции врожденного иммунитета и провоспалительный ответ фагоцитов на действие патогенов [75]. Окисленная мтДНК связывается непосредственно с рецепторным белком NLRP3, что приводит к активации белкового комплекса инфламмасом, в том числе, каспаз 1 и 5, и усилению продукции апоптозными клетками интерлейкинов IL-1 β и IL-18. ДНК-сенсорная функция инфламмасом осуществляется без участия рецепторов TLR [111].

Третьим способом реализации провоспалительных свойств двунитовой цитоплазматической (митохондриальной в том числе) ДНК является ее связывание с синтазой 2'-3'-циклического ГМФ-АМФ (cyclic GMP-AMP synthase, cGAS), что приводит к синтезу циклического динуклеотида гуанозинмонофосфат-аденозинмонофосфата (cGAMP), который активирует локализованный на эндоплазматическом ретикулуме белок стимулятор генов интерферонов (stimulator of interferon genes, STING) и, тем самым, индуцирует синтез клеткой интерферонов первой группы (type I IFN), в частности, IFN- β [112, 113]. Сигнальный каскад cGAS—cGAMP—STING участвует в детекции спленоцитами мыши окисленной мтДНК нейтрофилов человека, содержащей 8-охо-G, при ее парентеральном введении животным [77].

IV. МЕДИЦИНСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ ЭКЗОГЕННОГО 8-охо-dGuo, СВОБОДНОГО 8-охо-G, ОКИСЛЕННОЙ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК

В приведенных выше работах продемонстрировано, что свободный 8-охо-dGuo проявляет высокую биологическую активность антиоксидантного и противовоспалительного, антиаллергического характера *in vitro*, *in cellulo* и *in vivo*, и это позволяет рассматривать его в качестве потенциального терапевтического средства для лечения заболеваний, в патогенезе которых важную роль играет окислительный стресс и хроническое воспаление, таких как атеросклероз, артрит, остеопороз, гастрит, бронхиальная астма, сахарный диабет, нейродегенеративные

болезни, злокачественные новообразования и др. Необходимо введение препарата извне, поскольку скорость эндогенного образования 8-охо-dGuo в организме человека невелика и составляет, согласно оценке [19], в среднем, 0,55 мкг/кг/сут, что явно недостаточно для достижения терапевтического эффекта. По-видимому, некоторое количество 8-охо-dGuo образуется в ЖКТ человека при переваривании термически обработанной пищи, содержащей ДНК, так как под действием тепла гуанин в ДНК окисляется [114].

Экзогенный 8-охо-dGuo не мутагенен: проникает через клеточные мембраны, но не попадает в ядро [19]; в клетке не рефосфорилируется до 8-охо-dGTP и не инкорпорируется в ДНК [17, 18]. В доступной литературе значение LD_{50} для 8-охо-dGuo отсутствует, но отдельные наблюдения свидетельствуют о малой токсичности соединения. Так, 8-охо-dGuo в концентрациях до 500 мкг/мл не оказывал цитотоксических эффектов на микроглиальные клетки линии BV2 при ко-инкубации в течение 72 ч [41, 42]. Ежедневное на протяжении трех суток внесение в среду инкубации тучных клеток, выделенных из костного мозга мышей, 8-охо-dGuo (300 мкг/мл) не приводило к увеличению числа двунитевых разрывов ДНК, о чем судили по уровню экспрессии фосфорилированного гистона γ -H2AX [40]. Двухнедельный курс инъекций 8-охо-dGuo (330 мг/кг/сут) не повлиял на вес бестимусных мышей Balb/c, тогда как у мышей, получавших 6-TG в меньшей дозировке (33 мг/кг/сут), вес тела уменьшился на 35% [55]. Не было отмечено никаких гистологических изменений в тканях легких, печени, кишечника у мышей, которым вводили 8-охо-dGuo в дозах 60 и 100 мг/кг/сут [38, 39, 48].

Представляется перспективным проведение полномасштабных доклинических испытаний 8-охо-dGuo для определения фармакологических свойств и токсикологической характеристики соединения, его фармакокинетики и метаболизма, возможности кумуляции, развития толерантности, зависимости, для поиска возможных преимуществ препарата по сравнению с существующими противовоспалительными лекарственными средствами.

В обычных условиях воспалительная реакция, запускаемая 8-охо-G (OGG1•8-охо-G), может быть частью физиологического ответа организма на действие повреждающих агентов и выполнять полезную функцию защиты от внешних патогенов. Однако, если внешнее воздействие накладывается на уже существующее патологическое состояние (иммуносупрессия, аллергия, старение), при котором процессы воспаления не контролируются должным образом, инициируемый 8-охо-G провоспалительный сигналинг может привести

к обострению текущих болезней. Рекрутируемые хемокинами/цитокинами в очаг воспаления нейтрофилы генерируют АФК/АФА, которые вызывают повреждение ДНК и ее репарацию, что способно сформировать порочный круг, поддерживающий хроническое воспаление: OGG1•8-охо-G → Ras-GTP → провоспалительный сигналинг → хемокины/цитокины → АФК/АФА → 8-охо-G [56]. Активируемый 8-охо-G сигнальный каскад, возможно, связан этиологически с соматическими заболеваниями воспалительного характера. Из сказанного следует, что важной терапевтической мишенью при профилактике и лечении таких болезней может стать модуляция: (а) активности OGG1 [115]; (б) базового уровня 8-охо-G в ДНК; (с) GEF-подобной активности комплекса OGG1•8-охо-G. Наблюдаемое с возрастом снижение активности OGG1 в тканях, по-видимому, является проявлением клеточной защиты от эксацербации патофизиологических воспалительных процессов [98]. Перспективна стратегия поиска способа переключения репарации 8-охо-G с OGG1 на NEIL1/2, поскольку эти ферменты не взаимодействуют физически с ГТФазами Ras [90], а NEIL2 у мышей оказывает противовоспалительное действие [102].

Высокая биологическая активность молекул вкДНК определяется наличием в их составе метилированных CpG-динуклеотидов и 8-охо-dGuo. ДНК, содержащая CpG, относится к числу «молекулярных паттернов патогенности» (pathogen-associated molecular patterns, PAMP), сигнализирующих об инфекционной инвазии и инициирующих воспалительный и иммунный ответ организма [116]. Окисленная ДНК, по-видимому, входит в родственную группу «молекулярных паттернов повреждения» (damage-associated molecular patterns, DAMP) – эндогенных молекул, сигнализирующих о любом повреждающем воздействии [117]. Окисленная ДНК способна как самостоятельно вызывать воспалительные реакции *in vitro* и *in vivo* [73], так и действовать синергично с CpG-содержащей ДНК, усиливая иммуностимулирующие качества последней [71]. Биологическое действие вкДНК, содержащей 8-охо-G, на клетки разного типа отличается и зависит от степени ее окисления [67], но, в целом, напоминает действие ионизирующей радиации: в малых дозах окисленная вкДНК стимулирует биосинтез АФК и образование разрывов ДНК, блокирует клеточное деление, при этом происходит формирование адаптивного ответа – активация транскрипционного фактора NRF2, усиление экспрессии генов *SOD1*, *BCL2*, подавление активности NF-κB, увеличение стрессоустойчивости клеток; в больших дозах окисленная вкДНК для клеток токсична [65]. Роль CpG-содержащей окис-

ленной вкДНК как посредника стресс-сигнализации при развитии адаптивного ответа клеток на действие факторов повреждения было бы полезно учитывать в клинике. Поскольку показано [68], что опухолевые клетки чувствительнее нормальных к действию окисленной ДНК и проявляют выраженный адаптивный ответ к действию лучевой и химиотерапии, то, очевидно, освобождаясь из гибнущих в результате терапии опухолевых клеток окисленная ДНК будет стимулировать интактные злокачественные клетки, увеличивая их выживаемость. С другой стороны, повышение стрессоустойчивости клеток малыми дозами окисленной ДНК может быть полезно при культивировании стволовых и дифференцированных клеток, предназначенных для клеточной терапии и тканевой инженерии [65]. Учитывая, что окисленная вкДНК оказывает на ткани эффект, подобный «эффекту свидетеля», представимо ее использование при терапии новообразований совместно с ионизирующей радиацией (или вместо нее) для уменьшения лучевой нагрузки на организм пациента без ущерба для результата лечения [67]. В норме, вкДНК устраняется из кровообращения эндонуклеазами крови или выводится из организма в виде иммунных комплексов со специфичными к CpG-ДНК антителами [118]. Для многих заболеваний характерен патологически высокий уровень вкДНК в крови, и элиминация избытка вкДНК в этих условиях была бы полезна. Представляется перспективным поиск методов стимуляции механизмов удаления вкДНК из организма, прежде всего, способов увеличения эндонуклеазной активности крови за счет, возможно, введения в кровоток препаратов ДНКазы I, изменения уровня экспрессии эндонуклеаз или их белков-ингибиторов. Долговременное периодическое низкодозовое облучение ионизирующим излучением сопровождается стойким увеличением активности эндонуклеаз крови [119], что свидетельствует о возможности модулировать активность эндогенных ДНКаз, в частности, внешними физическими воздействиями. С помощью искусственного манипулирования степенью окисления вкДНК, ее концентрацией, содержанием в ней CpG-динуклеотидов, по-видимому, можно позитивно влиять на клиническое течение и исход хронических заболеваний, сопровождающихся массовой гибелью клеток и выходом ДНК из них [117].

V. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Благодаря своему низкому редокс-потенциалу, G в ДНК легко окисляется, давая начало целому ряду производных продуктов, из которых основным является 8-охо-G. Генотоксичность 8-охо-G и механизмы реализации его мутагенного потенциала в клетке хорошо изучены, но лишь недавно стала формироваться более объемная картина биологических последствий образования 8-охо-G в ДНК, возникло понимание того, что 8-охо-G нельзя рассматривать исключительно как нежелательный побочный продукт окислительного метаболизма, но необходимо учитывать его участие в обеспечении важных физиологических процессов в клетке: релаксации хроматина и инициации транскрипции, регуляции экспрессии генов, фоторепарации пиримидиновых димеров и др. [25, 26, 120, 121].

В последние годы появились экспериментальные доказательства того, что в клетке свободный 8-охо-G и содержащие 8-охо-G молекулы представляют собой не просто инертные продукты репарации или деградации ДНК, но являются активными участниками внутриклеточной сигнализации, способными как инициировать, так и тормозить такие процессы. Если свободный 8-охо-G и окисленная вкДНК играют роль аларминов и медиаторов стрессовой сигнализации в клетке, запуская и потенцируя воспалительные и иммунные реакции с целью поддержания гомеостаза при действии внешних агентов, то 8-охо-dGuo проявляет выраженные противовоспалительные и антиоксидантные свойства, возможно, балансируя эффекты 8-охо-G. Окисленный гуанин и содержащие его молекулы могут оказаться важной терапевтической мишенью при лечении воспалительных, аллергических, аутоиммунных заболеваний и болезней, в патогенезе которых значимую роль играет окислительный стресс.

ЛИТЕРАТУРА

1. Меньшикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К., Бондарь И.А., Круговых Н.Ф., Труфакин В.А. (2006) Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты. М.: Слово, 136–140.
2. Nishimura, S. (2011) 8-Hydroxyguanine: a base for discovery, *DNA Repair*, **10**, 1078–1083.
3. Kasai, H., Nishimura, S. (1984) Hydroxylation of deoxyguanosine at the C-8 position by ascorbic acid and other reducing agents, *Nucl. Acids Res.*, **12**, 2137–2145.
4. Steenken, S., Jovanovic, S.V. (1997) How easily oxidizable is DNA? One-electron reduction potentials of adenosine and guanosine radicals in aqueous solution, *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 617–618.
5. Burrows, C.J., Muller, J.G. (1998) Oxidative nucleobase modifications

- leading to strand scission, *Chem. Rev.*, **98**, 1109–1152.
6. Luo, W., Muller, J.G., Rachlin, E.M., Burrows, C. J. (2001) Characterization of hydantoin products from one-electron oxidation of 8-oxo-7,8-dihydroguanosine in a nucleoside model, *Chem. Res. Toxicol.*, **14**, 927–938.
 7. Cooke, M.S., Evans, M.D., Dizdargolu, M., Lunec, J. (2003) Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease, *FASEB J.*, **17**, 1195–1214.
 8. Kasai, H. (1997) Analysis of a form of oxidative DNA damage, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, as a marker of cellular oxidative stress during carcinogenesis, *Mutat. Res.*, **387**, 147–163.
 9. Gedik, C.M., Collins, A., ESCODD (2005) Establishing the background level of base oxidation in human lymphocyte DNA: results of an interlaboratory validation study, *FASEB J.*, **19**, 82–84.
 10. Nakamoto, H., Kaneko, T., Tahara, S., Hayashi, E., Naito, H., Radak, Z., Goto, S. (2007) Regular exercise reduces 8-oxodG in the nuclear and mitochondrial DNA and modulates the DNA repair activity in the liver of old rats, *Exp. Gerontol.*, **42**, 287–295.
 11. Lindahl, T. (1993) Instability and decay of the primary structure of DNA, *Nature*, **362**, 709–715.
 12. Grollman, A.P., Moriya, M. (1993) Mutagenesis by 8-oxoguanine: an enemy within, *Trends Genet.*, **9**, 246–249.
 13. Черников А.В., Усачева А.М., Брусков В.И. (1996) Депуринизация 8-гидроксигуаниновых нуклеозидов, *Биохимия*, **61**, 49–54.
 14. Evans, M.D., Mistry, V., Singh, R., Gackowski, D., Rozalski, R., Siomek-Gorecka, A., Phillips, D.H., Zuo, J., Mullenders, L., Pines, A., Nakabeppu, Y., Sakumi, K., Sekiguchi, M., Tsuzuki, T., Bignami, M., Olinski, R., Cooke, M.S. (2016) Nucleotide excision repair of oxidised genomic DNA is not a source of urinary 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine, *Free Radic. Biol. Med.*, **99**, 385–391.
 15. Shinmura, K., Yamaguchi, S., Saitoh, T., Takeuchi-Sasaki, M., Kim, S.R., Nohmi, T., Yokota, J. (2000) Adenine excisional repair function of MYH protein on the adenine:8-hydroxyguanine base pair in double-stranded DNA, *Nucl. Acids Res.*, **28**, 4912–4918.
 16. Cooke, M.S., Evans, M.D., Dove, R., Rozalski, R., Gackowski, D., Siomek, A., Lunec, J., Olinski, R. (2005) DNA repair is responsible for the presence of oxidatively damaged DNA lesions in urine, *Mutat. Res.*, **574**, 58–66.
 17. Kim, J.E., Hyun, J.W., Hayakawa, H., Choi, S., Chung, M.H. (2006) Exogenous 8-oxo-dG is not utilized for nucleotide synthesis but enhances the accumulation of 8-oxo-Gua in DNA through error-prone DNA synthesis, *Mutat. Res.*, **596**, 128–136.
 18. Kim, J.E., Chung, M.H. (2006) 8-Oxo-7, 8-dihydro-2'-deoxyguanosine is not salvaged for DNA synthesis in human leukemic U937 cells, *Free Radic. Res.*, **40**, 461–466.
 19. Choi, S., Choi, H.-H., Lee, S.-H., Ko, S.-H., You, H.-J., Ye, S.-K., Chung, M.-H. (2007) Anti-inflammatory effects of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine on lipopolysaccharide-induced inflammation via Rac suppression in Balb/c mice, *Free Radic. Biol. Med.*, **43**, 1594–1603.
 20. Hu, C.W., Cooke, M.S., Tsai, Y.H., Chao, M.R. (2015) 8-Oxo-7,8-dihydroguanine and 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine concentrations in various human body fluids: implications for their measurement and

- interpretation, *Arch. Toxicol.*, **89**, 201–210.
21. Hyun, J.W., Jung, Y.C., Kim, H.S., Choi, E.Y., Kim, J.E., Yoon, B.H., Yoon, S.H., Lee, Y.S., Choi, J., You, H.J., Chung, M.H. (2003) 8-Hydroxydeoxyguanosine causes death of human leukemia cells deficient in 8-oxoguanine glycosylase 1 activity by inducing apoptosis, *Mol. Cancer Res.*, **1**, 290–299.
22. Lu, A.L., Li, X., Gu, Y., Wright, P.M., Chang, D.Y. (2001) Repair of oxidative DNA damage: mechanisms and functions, *Cell Biochem. Biophys.*, **35**, 141–170.
23. Dizdaroglu, M. (2012) Oxidatively induced DNA damage: mechanisms, repair and disease, *Cancer Lett.*, **327**, 26–47.
24. Cadet J., Davies, K.J.A., Medeiros, M.H., Di Mascio, P., Wagner, J.R. (2017) Formation and repair of oxidatively generated damage in cellular DNA, *Free Radic. Biol. Med.*, **107**, 13–34.
25. Radak, Z., Boldogh, I. (2010) 8-Oxo-7,8-dihydroguanine: Links to gene expression, aging, and defense against oxidative stress, *Free Radic. Biol. Med.*, **49**, 587–596.
26. Мармий Н.В., Есипов Д.С. (2015) Биологическая роль 8-оксо-2'-дезоксигуанозина, *Вестн. Моск. Ун-та, Сер. Биология*, № 4, 19–23.
27. Kong, Q., Lin, C.L. (2010) Oxidative damage to RNA: mechanisms, consequences, and diseases, *Cell. Mol. Life Sci.*, **67**, 1817–1829.
28. Stuart, J.A., Bourque, B.M., de Souza-Pinto, N.C., Bohr, V.A. (2005) No evidence of mitochondrial respiratory dysfunction in OGG1-null mice deficient in removal of 8-oxo-deoxyguanine from mitochondrial DNA, *Free Radic. Biol. Med.*, **38**, 737–745.
29. Mabley, J.G., Pacher, P., Deb, A., Wallace, R., Elder, R.H., Szabo, C. (2005) Potential role for 8-oxoguanine DNA glycosylase in regulating inflammation, *FASEB J.*, **19**, 290–292.
30. Perillo, B., Ombra, M.N., Bertoni, A., Cuzzo, C., Sacchetti, S., Sasso, A., Chiariotti, L., Malorni, A., Abbondanza, C., Avvedimento, E.V. (2008) DNA oxidation as triggered by H3K9me2 demethylation drives estrogen-induced gene expression, *Science*, **319**, 202–206.
31. Kuraoka, I., Suzuki, K., Ito, S., Hayashida, M., Kwei, J.S., Ikegami, T., Handa, H., Nakabeppu, Y., Tanaka, K. (2007) RNA polymerase II bypasses 8-oxoguanine in the presence of transcription elongation factor TFIIS, *DNA Repair*, **6**, 841–851.
32. Kim, J.-E., Choi, S., Yoo, J.-A., Chung, M.-H. (2004) 8-Oxoguanine induces intramolecular DNA damage but free 8-oxoguanine protects intermolecular DNA from oxidative stress, *FEBS Lett.*, **556**, 104–110.
33. Ock, C.Y., Hong, K.S., Choi, K.-S., Chung, M.-H., Kim, Y.S., Kim, J.H., Hahm, K.-B. (2011) A novel approach for stress-induced gastritis based on paradoxical anti-oxidative and anti-inflammatory action of exogenous 8-hydroxydeoxyguanosine, *Biochem. Pharmacol.*, **81**, 111–122.
34. Lee, J.-K., Ko, S.-H., Ye, S.-K., Chung, M.-H. (2013) 8-Oxo-2'-deoxyguanosine ameliorates UVB-induced skin damage in hairless mice by scavenging reactive oxygen species and inhibiting MMP expression, *J. Dermatol. Sci.*, **70**, 49–57.
35. Gudkov, S.V., Shtarkman, I.N., Smirnova, V.S., Chernikov, A.V., Bruskov, V.I. (2006) Guanosine and inosine display antioxidant activity, protect DNA in vitro from oxidative damage induced by reactive oxygen

- species, and serve as radioprotectors in mice, *Radiat. Res.*, **165**, 538–545.
36. Kim, D., Quan, Y., Park, B., Chung, M., Ro, J. (2009) Inhibitory effects of 8-oxo-dG on the cellular damage in the mouse whole body irradiation, *Allergy*, **64**, Suppl. s90, 11.
 37. Geronikaki, A.A., Gavalas, A.M. (2006) Antioxidants and inflammatory disease: synthetic and natural antioxidants with anti-inflammatory activity, *Comb. Chem. High Throughput Screen.*, **9**, 425–442.
 38. Ro, J.Y., Kim, D.Y., Lee, S.-H., Park, J.W., Chung, M.-H. (2009) Effects of 7,8-dihydro-8-oxo-deoxyguanosine on antigen challenge in ovalbumin-sensitized mice may be mediated by suppression of Rac, *Br. J. Pharmacol.*, **158**, 1743–1752.
 39. Kim, J.-S., Kim, D.-Y., Lee, J.-K., Ro, J.-Y., Chung, M.-H. (2011) 8-Oxo-2'-deoxyguanosine suppresses allergy-induced lung tissue remodeling in mice, *Eur. J. Pharmacol.*, **651**, 218–226.
 40. Hong, G.U., Kim, N.G., Ro, J.Y. (2014) Expression of airway remodeling proteins in mast cell activated by TGF- β released in OVA-induced allergic responses and their inhibition by low-dose irradiation or 8-oxo-dG, *Radiat. Res.*, **181**, 425–438.
 41. Kim, H.S., Ye, S.-K., Cho, I.H., Jung, J.E., Kim, D.-H., Choi, S., Kim, Y.-S., Park, C.-G., Kim, T.-Y., Lee, J.W., Chung, M.-H. (2006) 8-Hydroxydeoxyguanosine suppresses NO production and COX-2 activity via Rac1/STATs signaling in LPS-induced brain microglia, *Free Radic. Biol. Med.*, **41**, 1392–1403.
 42. Kim, D.H., Cho, I.H., Kim, H.S., Jung, J.E., Kim, J.E., Lee, K.H., Park, T., Yang, Y.M., Seong, S.-Y., Ye, S.-K., Chung, M.-H. (2006) Anti-inflammatory effects of 8-hydroxydeoxyguanosine in LPS-induced microglia activation: suppression of STAT3-mediated intercellular adhesion molecule-1 expression, *Exp. Mol. Med.*, **38**, 417–427.
 43. Hong, G.U., Kim, N.G., Jeoung, D., Ro, J.Y. (2013) Anti-CD40 Ab or 8-oxo-dG-enhanced Treg cells reduce development of experimental autoimmune encephalomyelitis via down-regulating migration and activation of mast cells, *J. Neuroimmunology*, **260**, 60–73.
 44. Clempus, R.E., Griendling, K.K. (2006) Reactive oxygen species signaling in vascular smooth muscle cells, *Cardiovasc. Res.*, **71**, 216–225.
 45. Martinet, W., Knaapen, M.W., De Meyer, G.R., Herman, A.G., Kockx, M.M. (2002) Elevated levels of oxidative DNA damage and DNA repair enzymes in human atherosclerotic plaques, *Circulation*, **106**, 927–932.
 46. Huh, J.Y., Son, D.J., Lee, Y., Lee, J., Kim, B., Lee, H.M., Jo, H., Choi, S., Ha, H., Chung, M.-H. (2012) 8-Hydroxy-2-deoxyguanosine prevents plaque formation and inhibits vascular smooth muscle cell activation through Rac1 inactivation, *Free Radic. Biol. Med.*, **53**, 109–121.
 47. Ock, C.-Y., Kim, E.-H., Choi, D.J., Lee, H.J., Hahm, K.-B., Chung, M.H. (2012) 8-Hydroxydeoxyguanosine: Not mere biomarker for oxidative stress, but remedy for oxidative stress-implicated gastrointestinal diseases, *World J. Gastroenterol.*, **18**, 302–308.
 48. Ock, C.Y., Kim, E.-H., Hong, H., Hong, K.S., Han, Y.-M., Choi, K.-S., Hahm, K.-B., Chung, M.-H. (2011) Prevention of colitis-associated colorectal cancer with 8-hydroxydeoxyguanosine, *Cancer Prev. Res.*, **4**, 1507–1521.
 49. Hanson, R.L., Imperatore, G., Bennett, P.H., Knowler, W.C. (2002) Components of the «metabolic syndrome» and incidence of type 2 diabetes, *Diabetes*, **51**, 3120–3127.

50. Ko, S.-H., Lee, J.-K., Lee, H.J., Ye, S.-K., Kim, H.-S., Chung, M.-H. (2014) 8-Oxo-2'-deoxyguanosine ameliorates features of metabolic syndrome in obese mice, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **443**, 610–616.
51. Grivennikov, S.I., Greten, F.R., Karin, M. (2010) Immunity, inflammation, and cancer, *Cell*, **140**, 883–899.
52. Hyun, J.-W., Jung, Y.-Ch., Kim, H.-S., Choi, E.-Y., Kim, J.-E., Yoon, B.-H., Yoon, S.-H., Lee, Y.-S., Choi, J., You, H.-J., Chung, M.-H. (2003) 8-Hydroxydeoxyguanosine causes death of human leukemia cells deficient in 8-oxoguanine glycosylase 1 activity by inducing apoptosis, *Mol. Cancer Res.*, **1**, 290–299.
53. Hyun, J.-W., Choi, J.-Y., Zeng, H.-H., Lee, Y.-S., Kim, H.-S., Yoon, S.-H., Chung, M.-H. (2000) Leukemic cell line KG-1 has a functional loss of hOGG1 enzyme due to a point mutation and 8-hydroxydeoxyguanosine can kill KG-1, *Oncogene*, **19**, 4476–4479.
54. Hyun, J.W., Yoon, S.H., Yu, Y., Han, C.S., Park, J.S., Kim, H.S., Lee, S.J., Lee, Y.S., You, H.J., Chung, M.H. (2006) oh⁸dG induces G₁ arrest in a human acute leukemia cell line by upregulating P21 and blocking the RAS to ERK signaling pathway, *Int. J. Cancer*, **118**, 302–309.
55. Choi, S., Choi, H.H., Choi, J.-H., Yoon, B.-H., You, H.J., Hyun, J.-W., Kim, J.-E., Ye, S.-K., Chung, M.-H. (2006) Inhibitory effect of 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine on the growth of KG-1 myeloid sarcoma in Balb/c nude mice, *Leuk. Res.*, **30**, 1425–1436.
56. Ba, X., Aguilera-Aguirre, L., Rashid, Q.T., Bacsi, A., Radak, Z., Sur, S., Hosoki, K., Hegde, M.L., Boldogh, I. (2014) The role of 8-oxoguanine DNA glycosylase-1 in inflammation, *Int. J. Mol. Sci.*, **15**, 16975–16997.
57. Aguilera-Aguirre, L., Hosoki, K., Bacsi, A., Radak, Z., Wood, T.G., Widen, S.G., Sur, S., Ameredes, B.T., Saavedra-Molina, A., Brasier, A.R., Ba, X., Boldogh, I. (2015) Whole transcriptome analysis reveals an 8-oxoguanine DNA glycosylase-1-driven DNA repair-dependent gene expression linked to essential biological processes, *Free Radic. Biol. Med.*, **81**, 107–118.
58. Aguilera-Aguirre, L., Hosoki, K., Bacsi, A., Radak, Z., Sur, S., Hegde, M.L., Tian, B., Saavedra-Molina, A., Brasier, A.R., Ba, X., Boldogh, I. (2015) Whole transcriptome analysis reveals a role for OGG1-initiated DNA repair signaling in airway remodeling, *Free Radic. Biol. Med.*, **89**, 20–33.
59. Мармий Н.В., Моргунова Г.В., Есипов Д.С., Хохлов А.Н. (2016) 8-Оксо-2'-дезоксигуанозин: биомаркер клеточного старения и окислительного стресса или потенциальное лекарство против возрастных болезней? *Клинич. геронтология*, **22**, 46–47.
60. German, P., Saenz, D., Szaniszló, P., Aguilera-Aguirre, L., Pan, L., Hegde, M.L., Bacsi, A., Hajas, G., Radak, Z., Ba, X., Mitra, S., Papaconstantinou, J., Boldogh, I. (2017) 8-Oxoguanine DNA glycosylase-1-driven DNA repair—A paradoxical role in lung aging, *Mech. Ageing Dev.*, **161**, 51–65.
61. Gahan, P.B., Swaminathan, R. (2008) Circulating nucleic acids in plasma and serum, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **1137**, 1–6.
62. Vlassov, V.V., Laktionov, P.P., Rykova, E.Y. (2007) Extracellular nucleic acids, *BioEssays*, **29**, 654–667.
63. Васильева И.Н., Подгорная О.И., Беспалов В.Г. (2015) Нуклеосомная фракция внеклеточной ДНК как показатель апоптоза, *Цитология*, **57**, 87–94.

64. Kostyuk, S., Tabakov, V.J., Chestkov, V.V., Konkova, M.S., Glebova, K.V., Baydakova, G.V., Ershova, E.S., Izhevskaya, V.L., Baranova, A., Veiko, N.N. (2013) Oxidized DNA induces an adaptive response in human fibroblasts, *Mutat. Res.*, **747–748**, 6–18.
65. Glebova, K., Veiko, N., Kostyuk, S., Izhevskaya, V., Baranova, A. (2015) Oxidized extracellular DNA as a stress signal that may modify response to anticancer therapy, *Cancer Lett.*, **356**, 22–33.
66. Loseva, P., Kostyuk, S., Malinovskaya, E., Clement, N., Dechesne, C.A., Dani, C., Smirnova, T., Glebova, K., Baidakova, G., Baranova, A., Izhevskaya, V., Ginter, E., Veiko, N. (2012) Extracellular DNA oxidation stimulates activation of Nrf2 and reduces the production of ROS in human mesenchymal stem cells, *Expert Opin. Biol. Ther.*, **12**, Suppl. 1, S85–S97.
67. Kostyuk, S.V., Ermakov, A.V., Alekseeva, A.Y., Smirnova, T.D., Glebova, K.V., Efremova, L.V., Baranova, A., Veiko, N.N. (2012) Role of extracellular DNA oxidative modification in radiation induced bystander effects in human endothelial cells, *Mutat. Res.*, **729**, 52–60.
68. Kostyuk, S.V., Konkova, M.S., Ershova, E.S., Alekseeva, A.J., Smirnova, T.D., Stukalov, S.V., Kozhina, E.A., Shilova, N.V., Zolotukhina, T.V., Markova, Z.G., Izhevskaya, V.L., Baranova, A., Veiko, N.N. (2013) An exposure to the oxidized DNA enhances both instability of genome and survival in cancer cells, *PLoS ONE*, **8**, e77469.
69. Ermakov, A.V., Konkova, M.S., Kostyuk, S.V., Smirnova, T.D., Malinovskaya, E.M., Efremova, L.V., Veiko, N.N. (2011) An extracellular DNA mediated bystander effect produced from low dose irradiated endothelial cells, *Mutat. Res.*, **712**, 1–10.
70. Костюк С.В., Алексеева А.Ю., Конькова М.С., Глебова К.В., Смирнова Т.Д., Каменева Л.А., Ижевская В.Л., Вейко Н.Н. (2014) Окисленная внеклеточная ДНК снижает продукцию окиси азота эндотелиальной NO-синтазой (eNOS) в эндотелиальных клетках человека (HUVEC), *Бюлл. эксперим. биол. мед.*, **157**, 163–168.
71. Yoshida, H., Nishikawa, M., Kiyota, T., Toyota, H., Takakura, Y. (2011) Increase in CpG DNA-induced inflammatory responses by DNA oxidation in macrophages and mice, *Free Radic. Biol. Med.*, **51**, 424–431.
72. Jurk, M., Kritzler, A., Debelak, H., Vollmer, J., Krieg, A.M., Uhlmann, E. (2006) Structure–activity relationship studies on the immune stimulatory effects of base-modified CpG Toll-like receptor 9 agonists, *ChemMedChem*, **1**, 1007–1014.
73. Collins, L.V., Hajizadeh, S., Holme, E., Jonsson, I.-M., Tarkowski, A. (2004) Endogenously oxidized mitochondrial DNA induces in vivo and in vitro inflammatory responses, *J. Leukoc. Biol.*, **75**, 995–1000.
74. Hudson, E.K., Hogue, B.A., Souza-Pinto, N.C., Croteau, D.L., Anson, R.M., Bohr, V.A., Hansford, R.G. (1998) Age-associated change in mitochondrial DNA damage, *Free Radic. Res.*, **29**, 573–579.
75. Shimada, K., Crother, T.R., Karlin, J., Dagvadorj, J., Chiba, N., Chen, S., Ramanujan, V.K., Wolf, A.J., Vergnes, L., Ojcius, D.M., Rentsendorj, A., Vargas, M., Guerrero, C., Wang, Y., Fitzgerald, K.A., Underhill, D.M., Town, T., Arditi, M. (2012) Oxidized mitochondrial DNA activates the NLRP3 inflammasome during apoptosis, *Immunity*, **36**, 401–414.
76. Pazmandi, K., Agod, Z., Kumar, B.V., Szabo, A., Fekete, T., Sogor, V.,

- Veres, A., Boldogh, I., Rajnavolgyi, E., Lanyi, A., Bacsi, A. (2014) Oxidative modification enhances the immunostimulatory effects of extracellular mitochondrial DNA on plasmacytoid dendritic cells, *Free Radic. Biol. Med.*, **77**, 281–290.
77. Lood, C., Blanco, L.P., Purmalek, M.M., Garmona-Rivera, C., De Ravin, S.S., Smith, C.K., Malech, H.L., Ledbetter, J.A., Elkon, K.B., Kaplan, M.J. (2016) Neutrophil extracellular traps enriched in oxidized mitochondrial DNA are interferogenic and contribute to lupus-like disease, *Nat. Med.*, **22**, 146–153.
78. Приходько А.С., Шабанов А.К., Зиновкина Л.А., Попова Е.Н., Азнаурян М.А., Ланина Н.О., Витушкина М.В., Зиновкин Р.А. (2015) Очищенная митохондриальная ДНК не способна активировать нейтрофилы человека in vitro, *Биохимия*, **80**, 746–753.
79. Hajizadeh, S., DeGroot, J., TeKoppele, J.M., Tarkowski, A., Collins, L.V. (2003) Extracellular mitochondrial DNA and oxidatively damaged DNA in synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis, *Arthritis Res. Ther.*, **5**, R234–R240.
80. Mittal, M., Siddiqui, M.R., Tran, K., Reddy, S.P., Malik, A.B. (2014) Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury, *Antioxid. Redox Signal.*, **20**, 1126–1167.
81. Finkel, T. (2003) Oxidant signals and oxidative stress, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **15**, 247–254.
82. Gupta, S., Campbell, D., Derijard, B., Davis, R.J. (1995) Transcription factor ATF2 regulation by the JNK signal transduction pathway, *Science*, **267**, 389–393.
83. Bustelo, X.R., Sauzeau, V., Berenjeno, I.M. (2007) GTP-binding proteins of the Rho/Rac family: regulation, effectors and functions in vivo, *BioEssays*, **29**, 356–370.
84. Bishop, A.L., Hall, A. (2000) Rho GTPases and their effector proteins, *Biochem. J.*, **348**, Pt. 2, 241–255.
85. Turkson, J., Bowman, J., Adnane, J., Zhang, Y., Djeu, J.Y., Sekharam, M., Frank, D.A., Holzman, L.B., Wu, J., Sebt, S., Jove, R. (1999) Requirement for Ras/Rac1-mediated p38 and c-Jun N-terminal kinase signaling in Stat3 transcriptional activity induced by the Src oncoprotein, *Mol. Cell. Biol.*, **19**, 7519–7528.
86. Simon, A.R., Vikis, H.G., Stewart, S., Fanburg, B.L., Cochran, B.H., Guan, K.-L. (2000) Regulation of STAT3 by direct binding to the Rac1 GTPase, *Science*, **290**, 144–147.
87. Levy, D.E., Lee, C. (2002) What does Stat3 do? *J. Clin. Invest.*, **109**, 1143–1148.
88. Lee, S.H., Han, S.T., Choi, S.W., Sung, S.Y., You, H.J., Ye, S.K., Chung, M.H. (2009) Inhibition of Rac and Rac-linked functions by 8-oxo-2'-deoxyguanosine in murine macrophages, *Free Radic. Res.*, **43**, 78–84.
89. Yoon, S.H., Hyun, J.W., Choi, J., Choi, E.Y., Kim, H.J., Lee, S.J., Chung, M.H. (2005) In vitro evidence for the recognition of 8-oxoGTP by Ras, a small GTP-binding protein, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **327**, 342–348.
90. Boldogh, I., Hajas, G., Aguilera-Aguirre, L., Hegde, M.L., Radak, Z., Bacsi, A., Sur, S., Hazra, T.K., Mitra, S. (2012) Activation of Ras signaling pathway by 8-oxoguanine DNA glycosylase bound to its excision product, 8-oxoguanine, *J. Biol. Chem.*, **287**, 20769–20773.
91. German, P., Szaniszló, P., Hajas, G., Radak, Z., Bacsi, A., Hazra, T.K., Hegde, M.L., Ba, X., Boldogh, I. (2013) Activation of cellular signaling by 8-oxoguanine DNA glycosylase-1-initiated DNA base excision repair, *DNA Repair*, **12**, 856–863.

92. Hajas, G., Bacsi, A., Aguilera-Aguirre, L., Hegde, M.L., Hazra, T.K., Sur, S., Radak, Z., Ba, X., Boldogh, I. (2013) 8-Oxoguanine DNA glycosylase-1 links DNA repair to cellular signaling via the activation of the small GTPase Rac1, *Free Radic. Biol. Med.*, **61**, 384–394.
93. Fromme, J.C., Bruner, S.D., Yang, W., Karplus, M., Verdine, G.L. (2003) Product-assisted catalysis in base-excision DNA repair, *Nat. Struct. Biol.*, **10**, 204–211.
94. Aguilera-Aguirre, L., Bacsi, A., Radak, Z., Hazra, T.K., Mitra, S., Sur, S., Brasier, A.R., Ba, X., Boldogh, I. (2014) Innate inflammation induced by the 8-oxoguanine DNA glycosylase-1-KRAS-NF- κ B pathway, *J. Immunol.*, **193**, 4643–4653.
95. Luo, J., Hosoki, K., Bacsi, A., Radak, Z., Hegde, M.L., Sur, S., Hazra, T.K., Brasier, A.R., Ba, X., Boldogh, I. (2014) 8-Oxoguanine DNA glycosylase-1-mediated DNA repair is associated with Rho GTPase activation and α -smooth muscle actin polymerization, *Free Radic. Biol. Med.*, **73**, 430–438.
96. Ba, X., Aguilera-Aguirre, L., Sur, S., Boldogh, I. (2015) 8-Oxoguanine DNA glycosylase-1-driven DNA base excision repair: role in asthma pathogenesis, *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.*, **15**, 89–97.
97. Mittal, M., Siddiqui, M.R., Tran, K., Reddy, S.P., Malik, A.B. (2014) Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury, *Antioxid. Redox Signal.*, **20**, 1126–1167.
98. Pandita, T.K. (2014) Unraveling the novel function of the DNA repair enzyme 8-oxoguanine-DNA glycosylase in activating key signaling pathways, *Free Radic. Biol. Med.*, **73**, 439–440.
99. Choudhary, S., Boldogh, I., Brasier, A.R. (2016) Inside-out signaling pathways from nuclear reactive oxygen species control pulmonary innate immunity, *J. Innate Immun.*, **8**, 143–155.
100. Mitchell, L., Hobbs, G.A., Aghajanian, A., Campbell, S.L. (2013) Redox regulation of Ras and Rho GTPases: mechanism and function, *Antioxid. Redox Signal.*, **18**, 250–258.
101. Kim, H.S., Kim, B.-H., Jung, J.E., Lee, C.S., Lee, H.G., Lee, J.W., Lee, K.H., You, H.J., Chung, M.-H., Ye, S.-K. (2016) Potential role of 8-oxoguanine DNA glycosylase 1 as a STAT1 coactivator in endotoxin-induced inflammatory response, *Free Radic. Biol. Med.*, **93**, 12–22.
102. Chakraborty, A., Wakamiya, M., Venkova-Canova, T., Pandita, R.K., Aguilera-Aguirre, L., Sarker, A.H., Singh, D.K., Hosoki, K., Wood, T.G., Sharma, G., Cardenas, V., Sarkar, P.S., Sur, S., Pandita, T.K., Boldogh, I., Hazra, T.K. (2015) Neil2-null mice accumulate oxidized DNA bases in the transcriptionally active sequences of the genome and are susceptible to innate inflammation, *J. Biol. Chem.*, **290**, 24636–24648.
103. Wagner, H., Bauer, S. (2006) All is not Toll: new pathways in DNA recognition, *J. Exp. Med.*, **203**, 265–268.
104. Hartmann, G., Krieg, A.M. (2000) Mechanism and function of a newly identified CpG DNA motif in human primary B cells, *J. Immunol.*, **164**, 944–953.
105. Barber, G.N. (2011) Cytoplasmic DNA innate immune pathways, *Immunol. Rev.*, **243**, 99–108.
106. Blasius, A.L., Beutler, B. (2010) Intracellular toll-like receptors, *Immunity*, **32**, 305–315.
107. Alekseeva, A.Y., Kameneva, L.V., Kostyuk, S.V., Veiko, N.N. (2016) Multiple ways of cfDNA reception and following ROS production in

- endothelial cells, *Adv. Exp. Med. Biol.*, **924**, 127–131.
108. Zhang, Q., Raoof, M., Chen, Y., Sumi, Y., Sursal, T., Junger, W., Brohi, K., Itagaki, K., Hauser, C. J. (2010) Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury, *Nature*, **464**, 104–107.
109. Gu, X., Wu, G., Yao, Y., Zeng, J., Shi, D., Lv, T., Luo, L., Song, Y. (2015) Intratracheal administration of mitochondrial DNA directly provokes lung inflammation through the TLR9–p38 MAPK pathway, *Free Radic. Biol. Med.*, **83**, 149–158.
110. Oka, T., Hikoso, S., Yamaguchi, O., Taneike, M., Takeda, T., Tamai, T., Oyabu, J., Murakawa, T., Nakayama, H., Nishida, K., Akira, S., Yamamoto, A., Komuro, I., Otsu, K. (2012) Mitochondrial DNA that escapes from autophagy causes inflammation and heart failure, *Nature*, **485**, 251–255.
111. Muruve, D.A., Petrilli, V., Zaiss, A.K., White, L.R., Clark, S.A., Ross, P.J., Parks, R.J., Tschopp, J. (2008) The inflammasome recognizes cytosolic microbial and host DNA and triggers an innate immune response, *Nature*, **452**, 103–107.
112. Barber, G.N. (2014) STING-dependent cytosolic DNA sensing pathways, *Trends Immunol.*, **35**, 88–93.
113. White, M.J., McArthur, K., Metcalf, D., Lane, R.M., Cambier, J.C., Herold, M.J., van Delft, M.F., Bedoui, S., Lessene, G., Ritchie, M.E., Huang, D.C.S., Kile B.T. (2014) Apoptotic caspases suppress mtDNA-induced STING-mediated type I IFN production, *Cell*, **159**, 1549–1562.
114. Bruskov, V.I., Malakhova, L.V., Masalimov, Z.K., Chernikov, A.V. (2002) Heat-induced formation of reactive oxygen species and 8-oxoguanine, a biomarker of damage to DNA, *Nucl. Acids Res.*, **30**, 1354–1363.
115. van Loon, B., Markkanen, E., Hubscher, U. (2010) Oxygen as a friend and enemy: How to combat the mutational potential of 8-oxoguanine, *DNA Repair*, **9**, 604–616.
116. Bianchi, M.E. (2007) DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger, *J. Leukoc. Biol.*, **81**, 1–5.
117. Ermakov, A.V., Konkova, M.S., Kostyuk, S.V., Izevskaya, V.L., Baranova, A., Veiko, N.N. (2013) Oxidized extracellular DNA as a stress signal in human cells, *Oxid. Med. Cell. Longev.*, **2013**, 649747.
118. Вейко Н.Н., Булычева Н.В., Рогинко О.А., Вейко Р.В., Ершова Е.С., Коздоба О.А., Кузьмин В.А., Виноградов А.М., Юдин А.А., Сперанский А.И. (2008) Фрагменты транскрибируемой области рибосомного повтора в составе внеклеточной ДНК – маркер гибели клеток организма, *Биомед. хим.*, **54**, 78–93.
119. Korzeneva, I.B., Kostuyk, S.V., Ershova, L.S., Osipov, A.N., Zhuravleva, V.F., Pankratova, G.V., Porokhovnik, L.N., Veiko, N.N. (2015) Human circulating plasma DNA significantly decreases while lymphocyte DNA damage increases under chronic occupational exposure to low-dose gamma-neutron and tritium β -radiation, *Mutat. Res.*, **779**, 1–15.
120. Delaney, S., Jarem, D.A., Volle, C.B., Yennie, C.J. (2012) Chemical and biological consequences of oxidatively damaged guanine in DNA, *Free Radic. Res.*, **46**, 420–441.

121. Fleming, A.M., Burrows, C.J. (2017) 8-Oxo-7,8-dihydroguanine, friend and foe: Epigenetic-like regulator versus initiator of mutagenesis, *DNA Repair*, **56**, 75–83.