

УДК 616-091.818: 577.152.1

УЧАСТИЕ РЕДОКС-СИГНАЛИЗАЦИИ В ОПОСРЕДОВАННОЙ ОКСИДОМ АЗОТА, МОНООКСИДОМ УГЛЕРОДА И СУЛЬФИДОМ ВОДОРОДА РЕГУЛЯЦИИ АПОПТОЗА И КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА

Старикова Е.Г., Таширева Л.А., Васильева О.А., Якушина В.Д., Новицкий В.В.,
Рязанцева Н.В.

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

РЕЗЮМЕ

В проведенном исследовании продемонстрировано, что проапоптотические концентрации доноров газов NO (100 мкмоль SNP и 100 мкмоль NOC-5), H₂S (10 мкмоль NaHS) и CO (50 мкмоль CORM-2) вызывали повышение внутриклеточного уровня активных форм кислорода в клетках линии Jurkat. При этом наблюдалась активация редоксзависимого транскрипционного фактора p53 при воздействии на клетки линии Jurkat 100 мкмоль SNP и 10 мкмоль NaHS. В случае 100 мкмоль NOC-5 и 50 мкмоль CORM-2 не зарегистрировано повышение уровня p53, однако наблюдалось увеличение экспрессии генов-мишеней данного фактора транскрипции p21 (при действии NO и CO) и bax (при действии NO). Антипролиферативная концентрация донора сульфида водорода (50 мкмоль) не вызывала увеличения внутриклеточной продукции активных форм кислорода и активацию редоксзависимых сигнальных механизмов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: активные формы кислорода, оксид азота, сульфид водорода, монооксид углерода.

Введение

Одна из основных функций газовых трансммиттеров – расслабление сосудистой стенки достигается за счет активации в наномолярных количествах гуанилатциклазы (для оксида азота и монооксида углерода) или активации калиевых АТФ-чувствительных каналов) для сульфида водорода [12]. При этом, действуя в более высоких концентрациях (микромолярные, низкие миллимолярные), данные вещества участвуют в регуляции таких процессов, как синтез цитокинов, апоптоз, пролиферация клеток [14, 17, 18]. Было показано, что газы имеют проапоптотический эффект в отношении клеток линии Jurkat, а также вызывают остановку данных клеток в G1-фазе клеточного цикла [4–6]. Известно, что оксид азота имеет свободнорадикальную природу, а газы сульфид водорода и монооксид углерода могут нарушать функционирование митохондрий с последующей наработкой АФК [13]. Последние могут выступать в качестве вторичных мессенджеров в опосредованной газами регуляции

апоптоза и пролиферации клеток. В микромолярных концентрациях АФК способны участвовать в регуляции различных клеточных функций, таких как пролиферация, биосинтез гормонов, хемотаксис, окислительный взрыв, агрегация, апоптоз и др. [1–3]. Однако активация при повышении внутриклеточного уровня АФК антиоксидантных систем может привести к отмене запуска редоксчувствительных сигнальных систем и нивелированию мессенджерной функции активных форм кислорода.

Цель работы – оценить внутриклеточное содержание АФК при воздействии на клетки проапоптотических и антипролиферативных концентраций доноров газовых трансммиттеров. Также будет проанализирована активация внутриклеточных редксенсоров: транскрипционного фактора p53 и экспрессия его генов-мишеней p21 и bax, свидетельствующая об участии АФК в клеточном метаболизме.

Материал и методы

При выполнении исследования клетки линии Jurkat (Т-лимфобластная лейкемия) инкубировали при температуре 37 °С в полной питательной среде,

✉ Старикова Елена Григорьевна, тел.: 8-906-951-7897; e-mail: to-elen@yandex.ru

содержащей 90% RPMI-1640 (ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск), 10% эмбриональной телячьей сыворотки («Биолот», г. Санкт-Петербург), инактивированной при температуре 56 °С в течение 30 мин, 0,3 мг/мл L-глутамин, 100 мкг/мл гентамицина. Для определения влияния газов оксида азота, монооксида углерода и сульфида водорода на процессы реализации апоптоза и пролиферации клеток в питательную среду инкубации клеток добавляли доноры оксида азота SNP и NOC-5 (Sigma, США) (100 ммоль, 15 мин и 100 мкмоль, 24 ч соответственно), донор монооксида углерода CORM-2 (Sigma) (50 мкмоль, 24 ч) и донор сульфида водорода натрий гидросульфид гидрат (Sigma) (10 ммоль, 15 мин и 50 мкмоль, 24 ч).

С использованием проточной лазерной цитометрии (Fax Canto2 (Beckton Dickenson, США)) определяли внутриклеточную продукцию АФК с использованием красителя ДХФ-ДА (Beckman Coulter, Франция).

Содержание транскрипционного фактора p53 определяли методом вестерн-блотт. Равное количество цельноклеточных лизатов подвергали электрофорезу в 10%-м SDS полиакриламидном геле, затем осуществляли перенос белков на нитроцеллюлозную мембрану. Далее мембрану блокировали 1%-м желатином, трижды промывали TTBS (20 ммоль/л Tris HCl, pH 7,6, 137 ммоль/л NaCl и 0,05% Tween 20). Затем мембрану инкубировали с первичными антителами (anti-p53 (Sigma) в течение 1 ч. Трижды промывали TTBS и добавляли вторичные антитела с пероксидазной меткой (Biosource, США). Для визуализации результатов исследования использовали хемилюминесцентный метод (NOVEX ECL Chemiluminescent Substrate Reagent kit (Invitrogen, США)). Количественное содержание белков определяли путем подсчета интенсивности бенда на рентгеновской пленке с помощью программы TotalLab 2.01. В качестве стандарта и внутреннего контроля использовали белок глицеро-3-фосфат-дегидрогеназу (Chemicon, США), выражая содержание исследуемых протеинов как отношение сигнала определяемого белка к сигналу белка глицеро-3-фосфат-дегидрогеназы в исследуемых образцах.

Для количественного определения уровня мРНК генов *p21* и *bax* использовали метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени. Выделение тотальной РНК из клеток осуществляли сорбентно-колоночным методом (QIAmp RNA Blood mini Kit, QIAGEN, Германия) согласно прилагаемой инструкции. Следующим шагом синтезировали кДНК на матрице мРНК при участии обратной транскриптазы. Полученный фрагмент кДНК амплифицировали методом ПЦР в режиме реального времени с использованием SYBR Green I (Molecular Probe, США) на

амплификаторе Mini Opticon (Bio-Rad, США). Результаты выражали в условных единицах (отношение числа циклов амплификации исследуемого гена к количеству циклов амплификации гена «домашнего хозяйства») [15]).

Оценку нормальности распределения полученных результатов проводили с использованием критерия Колмогорова–Смирнова. Достоверность различий ($p < 0,05$) оценивали с помощью непараметрических критериев Манна–Уитни (для независимых выборок) и Вилкоксона (для зависимых выборок). Данные представлены в виде медианы Me , верхнего и нижнего квартилей Q_1 – Q_3 .

Результаты и обсуждение

Была предпринята попытка оценить продукцию активных форм кислорода после воздействия на клетки линии Jurkat доноров газов оксида азота, сульфида водорода и монооксида углерода. Инкубация клеток со 100 ммоль SNP приводила к 4-кратному возрастанию уровня наработки АФК по сравнению с аналогичным показателем в контроле ($p < 0,05$). Показано, что воздействие оксида азота приводит к разобщению окислительного фосфорилирования на уровне цитохрома оксидазы, увеличению количества супероксида аниона и к синтезу пероксинитрита при взаимодействии NO с супероксидом [14, 20]. Зарегистрированное увеличение продукции АФК свидетельствует о возникновении состояния окислительного (нитрозирующего) стресса в условиях воздействия на клетки 100 ммоль SNP. Данное состояние поддерживается в клетках при инкубации со 100 мкмоль NOC-5 в течение 24 ч. Так, было выявлено увеличение содержания АФК по сравнению с контролем ($p < 0,05$). Известно, что оксид азота (IV), образующийся при взаимодействии NO с супероксидом аниона, не подвергается гидролизу в водной среде и может длительное время присутствовать в клетке [7]. Возможно, повышение продукции АФК при действии 100 мкмоль NOC-5 является результатом присутствия в клетке данного окислителя.

Воздействие на клетки 10 ммоль NaHS в течение 15 мин также приводило к возрастанию уровня АФК по сравнению с аналогичным параметром в интактных клетках ($p < 0,05$). Данные литературы убедительно свидетельствуют о том, что сульфид водорода обладает мощными восстановительными свойствами, защищая клетку от окислительного стресса [10, 11]. Однако в данном исследовании применение сверхвысокой концентрации NaHS (10 ммоль) может являться причиной нарушения митохондриального дыхания и увеличения уровня АФК.

Зарегистрировано повышение уровня АФК относительно контроля при инкубации клеток с 50 мкмоль CORM-2 ($p < 0,05$). Суточная инкубация клеток с 50 мкмоль NaHS не приводила к изменению уровня продукции АФК относительно такового в интактных клетках линии Jurkat ($p > 0,05$) (табл. 1). Поскольку увеличение уровня АФК может иметь непродолжительный характер и нивелироваться запуском антиоксидантных систем, отсутствие повышения данного показателя в случае 50 мкмоль NaHS может быть обусловлено неадекватно выбранным временем его измерения.

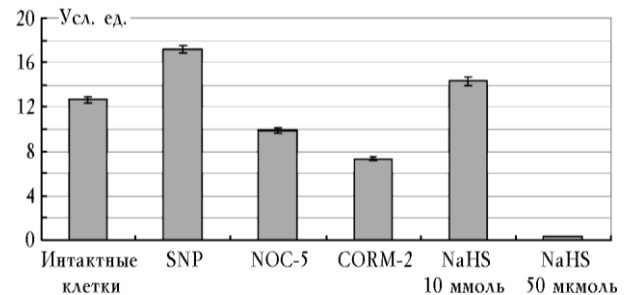
Таблица 1

Уровень продукции активных форм кислорода после воздействия доноров газов ($Me (Q_1-Q_3)$)	
Условия инкубации	Уровень АФК, усл. ед.
Интактные клетки линии Jurkat через 15 мин после пересева	2 533,0 (2 519,5–2 616,0)
Интактные клетки линии Jurkat через 24 ч после пересева	563,0 (499,5–585,0) ($p_1 < 0,05$)
Воздействия 100 мкмоль SNP через 15 мин после пересева	10 314,0 (10 078,5–13 693,5) ($p_1 < 0,05$)
Воздействия 10 мкмоль NaHS через 15 мин после пересева	2 795,0 (2 776,5–3 399,5) ($p_1 < 0,05$)
Воздействия 100 мкмоль NOC-5 через 24 ч после пересева	604,0 (600,5–938,5) ($p_2 < 0,05$)
Воздействия 50 мкмоль CORM-2 через 24 ч после пересева	1 322 (1 051–1 334) ($p_2 < 0,05$)
Воздействия 50 мкмоль NaHS через 24 ч после пересева	574 (531,5–575) ($p_2 > 0,05$)

Примечание. $p_1 < 0,05$ – по сравнению с интактными клетками линии Jurkat через 15 мин после пересева; $p_2 < 0,05$ – по сравнению с интактными клетками линии Jurkat через 24 ч после пересева.

Кроме того, зарегистрированное повышение уровня АФК при действии доноров NO, CO и H₂S может быть недостаточным для изменения клеточного метаболизма. Ряд молекул, таких как транскрипционные факторы p53, NF-1, являются «биологическими маркерами», свидетельствующими о запуске редокс-сигнализации. Так, возрастание уровня АФК в клетке должно приводить к активации редокс-чувствительного транскрипционного фактора p53. Воздействие доноров оксида азота (100 мкмоль) и сульфида водорода (10 мкмоль) в течение 15 мин приводило к возрастанию уровня p53 в клетках по сравнению с контролем ($p < 0,05$). Таким образом, повышение уровня АФК при действии SNP и NaHS приводит к активации редоксчувствительного транскрипционного фактора p53. Однако зарегистрированное повышение внутриклеточного содержания АФК при 24-часовой инкубации клеток с NOC-5 и CORM-2 не сопровождалось увеличением уровня p53 в клетках (рисунок).

По данным литературы, p53 имеет короткий период полужизни и в зависимости от типа клеток и природы стрессового сигнала инактивируется в течение 6–20 мин MDM2 убиквитин-лигазой [16]. Отсутствие повышения содержания p53 в клетках линии Jurkat после воздействия на них доноров NOC-5 и CORM-2, несмотря на высокий уровень внутриклеточной продукции АФК, может быть обусловлено, вероятно, образованием комплекса p53–MDM2 в результате более продолжительного по сравнению с SNP и 10 мкмоль NaHS воздействия. Донор сульфида водорода в концентрации 50 мкмоль также приводил к снижению уровня p53 относительно контроля ($p < 0,05$). Полученный результат может быть объяснен как отсутствием активационного стимула (не отмечено возрастания продукции АФК под влиянием данной концентрации NaHS), так и связыванием p53 с MDM2. В данном случае заключение об эффективной транскрипционной активности p53 может быть получено при измерении ответа генов-мишеней указанного фактора транскрипции.



Уровень транскрипционного фактора p53 после воздействия на клетки доноров газов

Установлено, что p53 способен трансаktivировать гены, кодирующие проапоптотические белки семейства Bcl-2 (Bax, Noxa, Puma и Bid) [20]. Было отмечено возрастание уровня экспрессии bax при воздействии на клетки 10 мкмоль SNP и 100 мкмоль NOC-5 относительно контроля ($p < 0,05$). Это подтверждает теорию о том, что снижение уровня p53 при инкубации клеток с NOC-5 обусловлено связыванием данного транскрипционного фактора с молекулой-ингибитором. Однако воздействие 50 мкмоль CORM-2 не приводило к изменению уровня экспрессии bax относительно аналогичного параметра в интактных клетках ($p > 0,05$) (табл. 2). Более того, инкубация клеток с 10 мкмоль NaHS, сопровождающаяся увеличением продукции АФК и содержания p53, приводила к снижению уровня экспрессии bax по сравнению с таковым в контроле ($p < 0,05$) 10 мкмоль NaHS. Данные литературы убедительно свидетельствуют о том, что структура p53 значительно различается в зависимости

от активирующего стимула [20]. Предполагается, что определенные стимулы (УФ-радиация, лекарственные вещества) приводят к различной посттрансляционной модификации p53 [17]. Возможно, для активации транскрипции гена *bax* посредством p53 необходимо присутствие компонентов нитрозилирующего стресса. Для выяснения вклада АФК в p53-опосредованное изменение экспрессии генов при действии газов была изучена еще одна транскрипционная мишень p53 – ген, кодирующий белок p21. Промоутер гена *p21* содержит p53-связывающий сайт, который позволяет p53 транскрипционно активировать указанный ген [9].

Таблица 2

Уровень экспрессии мРНК генов <i>bax</i> и <i>p21</i> после воздействия доноров газов ($Me (Q_1-Q_2)$)		
Условия инкубации	Уровень экспрессии мРНК гена <i>bax</i> , усл. ед.	Уровень экспрессии мРНК гена <i>p21</i> , усл. ед.
Интактные клетки линии Jurkat	0,91 (0,85–1,35)	0,04 (0,01–0,06)
Воздействие 100 ммоль SNP, 15 мин	3,03 (2,16–3,89) ($p < 0,05$)	0,51 (0,47–0,55) ($p < 0,05$)
Воздействие 10 ммоль NaHS, 15 мин	0,22 (0,16–0,37) ($p < 0,05$)	0,54 (0,47–0,59) ($p < 0,05$)
Воздействие 100 мкмоль NOC-5, 24 ч	2,76 (2,37–3,29) ($p < 0,05$)	0,63 (0,52–0,69) ($p < 0,05$)
Воздействие 50 мкмоль CORM-2, 24 ч	0,76 (0,41–1,17) ($p > 0,05$)	0,52 (0,46–0,59) ($p < 0,05$)
Воздействие 50 мкмоль NaHS, 24 ч	–	0,06 (0,03–0,09) ($p > 0,05$)

Примечание. $p < 0,05$ – по сравнению с интактными клетками линии Jurkat.

При инкубации клеточной культуры с донорами оксида азота SNP и NOC-5 отмечалось достоверное повышение уровня экспрессии гена *p21* по сравнению с интактными клетками ($p < 0,05$). Воздействие на клетки донора монооксида углерода и 10 ммоль сульфида водорода также привело к достоверному увеличению уровня экспрессии *p21* относительно контроля ($p < 0,05$). Уровень экспрессии мРНК *p21* не отличался от такового в интактных клетках после воздействия на клеточную культуру 50 мкмоль NaHS ($p > 0,05$) (табл. 2).

Таким образом, доноры газов NO (100 ммоль SNP и 100 мкмоль NOC-5), H₂S (10 ммоль NaHS) и CO (50 мкмоль CORM-2) вызывали повышение продукции АФК в клетках, достаточное для адекватной активации редоксзависимых сигнальных систем. Данный факт позволяет предполагать, что проапоптотическое и антипролиферативное действие газов частично или полностью обусловлено сигнальными свойствами АФК. Дальнейшие исследования должны быть направлены на выяснение специфических и АФК-зависимых мишеней действия газовых транс-

миттеров. Донор сульфида водорода в концентрации 50 мкмоль не вызывал увеличения АФК-продукции. Редоксзависимые сигнальные механизмы не задействованы в регуляцию клеточного цикла в случае воздействия на клетки 50 мкмоль NaHS.

Заключение

Проапоптотическое и антипролиферативное действие доноров газов NO (100 ммоль SNP и 100 мкмоль NOC-5), H₂S (10 ммоль NaHS) и CO (50 мкмоль CORM-2) в отношении клеток линии Jurkat сопряжено с повышением внутриклеточного уровня АФК и активацией редоксзависимых сигнальных систем. Антипролиферативный эффект 50 мкмоль донора сульфида водорода не связан с изменением редокс-статуса клеток.

Исследование выполнено при поддержке федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технического комплекса России на 2007–2013 годы» (государственный контракт от 27 февраля 2012 г. № 16.512.11.2282).

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009–2013 годы» (государственное соглашение № 8302), а также Совета по грантам при Президенте РФ для поддержки ведущих научных школ РФ № 16.120.11.614-НШ.

Литература

1. Плетюшкина О.Ю., Фетисова Е.К., Лямзаев К.Г. Пероксид водорода, образуемый внутри митохондрий, участвует в передаче апоптотического сигнала от клетки к клетке // Биохимия. 2006. Т. 71, вып. 1. С. 75–84.
2. Рязанцева Н.В., Новицкий В.В., Часовских Н.Ю. и др. Роль редоксзависимых сигнальных систем в регуляции апоптоза при окислительном стрессе // Цитология. 2009. Т. 51, № 4. С. 329–334.
3. Рязанцева Н.В., Новицкий В.В., Часовских Н.Ю. и др. Редоксзависимая регуляция апоптоза: адаптивная роль активных форм кислорода при окислительном стрессе // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2008. Т. 94, № 6. С. 710–718.
4. Рязанцева Н.В., Старикова Е.Г., Новицкий В.В. и др. Роль сульфида водорода в регуляции апоптоза клеток // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2011. Т. 151, № 6. С. 656–659.
5. Старикова Е.Г., Рязанцева Н.В., Новицкий В.В. и др. Роль внутриклеточных газовых транзиттеров сульфида водорода и оксида азота в регуляции апоптоза нормальных и бласттрансформированных клеток // Бюл. сиб. медицины. 2011. Т. 10, № 6. С. 40–44.
6. Старикова Е.Г., Таширева Л.А., Бельдягина Е.В. и др. Роль газовых транзиттеров в опухолевой трансформации клеток // Сиб. онколог. журн. 2012. Т. 52, № 4.

- C. 48–51.
7. *Butte A.J.* Further defining housekeeping, or “maintenance”, genes focus on a compendium of gene expression in normal human tissues // *Physiol. Genomics*. 2001. V. 7, no. 2. P. 95–96.
 8. *Dornan D., Wertz I., Shimizu H., Arnott D.* The ubiquitin ligase COP1 is a critical negative regulator of p53 // *Nature*. 2004. V. 429. P. 86–92.
 9. *Gartel A.L., Tyner A.L.* The Role of the Cyclin-dependent Kinase Inhibitor p21 in Apoptosis // *Molecular Cancer Therapeutics*. 2002. V. 1. P. 639–649.
 10. *Kajimura M., Fukuda R., Bateman R.M. et al.* Interactions of Multiple Gas-Transducing Systems: Hallmarks and Uncertainties of CO, NO and H₂S Gas Biology // *Antioxidants & Redox signaling*. 2010. V. 13. P. 157–193.
 11. *Kimura Y., Goto Y-I., Kimura H.* Hydrogen sulfide increases glutathione production and suppresses oxidative stress in mitochondria // *Antioxid Redox Signal*. 2010. V. 12. P. 1–13.
 12. *Koppenol W.H.* Chemistry of peroxynitrite and its relevance to biological systems // *Met. Ions Biol. Syst.* 1999. P. 597–619.
 13. *Pacher P., Beckman J.S., Liaudet L.* Nitric Oxide and Peroxynitrite in Health and Disease // *Physiol. Rev.* 2007. V. 87. P. 315–424.
 14. *Predmore B.L., Lefer D.J.* Development of hydrogen sulfide-based therapeutics for cardiovascular disease // *J. Cardiovasc. Transl. Res.* 2010. V. 3. P. 487–498.
 15. *Sen N., Snyder S.H.* Protein modifications involved in neurotransmitter and gasotransmitter signaling // *Trends Neurosci.* 2010. V. 33. P. 493–502.
 16. *Wang R.* The gasotransmitter role of hydrogen sulfide // *Antioxid Redox Signal*. 2003. V. 5. P. 493–501.
 17. *Webley K., Jane A., Bond I.* Posttranslational modifications of p53 in replicative senescence overlapping but distinct from those induced by DNA damage // *Molecular and Cellular Biology*. 2000. V. 20. P. 2803–2808.
 18. *Wink D.A., Cook J.A., Kim S. et al.* Superoxide modulates the oxidation and nitrosation of thiols by nitric oxide derived reactive intermediates // *J. Biol. Chem.* 1997. V. 272. P. 11147–11151.
 19. *Yang G., Sun X., Wang R.* Hydrogen sulfide-induced apoptosis of human aorta smooth muscle cells via the activation of MAP kinases and caspase-3 // *FASEB J.* 2004. V. 18. P. 1782–1784.
 20. *Zhao R., Gish K., Murphy M. et al.* Analysis of p53-regulated gene expression patterns using oligonucleotide arrays // *Genes Dev.* 2000. V. 8. P. 981–993.

Поступила в редакцию 11.10.2012 г.

Утверждена к печати 07.12.2012 г.

Старикова Е.Г. (✉) – канд. мед. наук, интерн кафедры молекулярной медицины и клинической лабораторной диагностики СибГМУ (г. Томск).

Таширева Л.А. – интерн кафедры молекулярной медицины и клинической лабораторной диагностики СибГМУ (г. Томск).

Васильева О.А. – канд. мед. наук, докторант кафедры патофизиологии СибГМУ (г. Томск).

Якушина В.Д. – аспирант кафедры патофизиологии СибГМУ (г. Томск).

Новицкий В.В. – заслуженный деятель науки РФ, д-р мед. наук, профессор, академик РАМН, зав. кафедрой патофизиологии СибГМУ (г. Томск).

Рязанцева Н.В. – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой молекулярной медицины и клинической лабораторной диагностики СибГМУ (г. Томск).

✉ **Старикова Елена Григорьевна**, тел.: 8-906-951-7897; e-mail: to-elen@yandex.ru

PARTICIPATION OF REDOX SIGNALIZATION IN NITRIC OXIDE-, CARBON MONOXIDE- AND HYDROGEN SULFIDE-MEDIATED REGULATION OF APOPTOSIS AND CELL CYCLE

Starikova Ye.G., Tashireva L.A., Vasilieva O.A., Yakushina V.D., Novitsky V.V., Ryazantseva N.V.

Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

ABSTRACT

The study has demonstrated that proapoptotic concentrations of donors of NO (100 mmol SNP and 100 μmol NOC-5), H₂S (10 mmol NaHS), and CO (50 μmol CORM-2) gases caused an increase in the intracellular level of active forms of oxygen in Jurkat cells. As this took place, the activation of redox-dependent transcription factor p53 was observed as Jurkat cells were exposed to 100 mmol SNP and 10 mmol NaHS. In the case of 100 μmol NOC-5 and 50 μmol CORM-2, an increase of p53 was not observed, but the expression of target genes of this transcription factor p21 (under the effect of NO and CO) and bax (under the effect of NO) increased. The antiproliferative concentration of hydrogen sulfide donor (50 μmol) did not cause an increase in the intracellular production of active forms of oxygen and the

activation of redox-dependent signal mechanisms.

KEY WORDS: reactive oxygen species, nitric oxide, hydrogen sulfide, carbon monoxide.

Bulletin of Siberian Medicine, 2013, vol. 12, no. 1, pp. 49–54

References

1. Pletyushkina O.Yu., Fetisova Ye.K., Lyamzayev K.G. *Biochemistry*, 2006, vol. 71, no. 1, pp. 75–84.
2. Ryazantseva N.V., Novitsky V.V., Chasovskikh N.Yu., Starikova Ye.G., Kaigorodova Ye.V., Starikov Yu.V., Radzivil T.T., Krat I.V. *Cytology*, 2009, vol. 51, no. 4, pp. 329–334.
3. Ryazantseva N.V., Novitsky V.V., Chasovskikh N.Yu., Kaigorodova Ye.V., Starikova E.G., Starikov Yu.V. *Russian Physiological Journal named after I.M. Sechenov*, 2008, vol. 94, no. 6, pp. 710–718.
4. Ryazantseva N.V., Starikova Ye.G., Novitsky V.V., Kleptsova L.A., Yakushina V.D., Kaigorodova Ye.V. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2011, vol. 151, no. 6, pp. 656–659.
5. Starikova Ye.G., Ryazantseva N.V., Novitsky V.V., Tashireva L.A., Starikov Yu.V., Stepovaya Ye.A., Osikhov I.A., Vasil'eva O.A., Yakushina V.D. *Bulletin of Siberian Medicine*, 2011, no. 6, pp. 40–44.
6. Starikova Ye.G., Tashireva L.A., Bel'dyagina Ye.V., Ryazantseva N.V., Novitsky V.V. *Siberian Journal of Oncology*, 2012, vol. 52, no. 4, pp. 48–51.
7. Butte A.J. Further defining housekeeping, or “maintenance”, genes focus on a compendium of gene expression in normal human tissues. *Physiol. Genomics*, 2001, vol. 7, no. 2, pp. 95–96.
8. Dornan D., Wertz I., Shimizu H., Arnott D. The ubiquitin ligase COP1 is a critical negative regulator of p53. *Nature*, 2004, vol. 429, pp. 86–92.
9. Gartel A.L., Tyner A.L. The role of the cyclin-dependent kinase inhibitor p21 in apoptosis. *Molecular Cancer Therapeutics*, 2002, vol. 1, pp. 639–649.
10. Kajimura M., Fukuda R., Bateman R.M. Interactions of multiple gas-transducing systems: hallmarks and uncertainties of CO, NO and H₂S gas biology. *Antioxidants & Redox signaling*, 2010, vol. 13, pp. 157–193.
11. Kimura Y., Goto Y-I., Kimura H. Hydrogen sulfide increases glutathione production and suppresses oxidative stress in mitochondria. *Antioxid Redox Signal*, 2010, vol. 12, pp. 1–13.
12. Koppenol W.H. Chemistry of peroxynitrite and its relevance to biological systems. *Met Ions Biol. Syst.*, 1999, vol. 36, pp. 597–619.
13. Pacher P., Beckman J. S., Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol. Rev.*, 2007, vol. 87, pp. 315–424.
14. Predmore B.L., Lefer D.J. Development of hydrogen sulfide-based therapeutics for cardiovascular disease. *J. Cardiovasc Transl Res.*, 2010, vol. 3, pp. 487–498.
15. Sen N., Snyder S.H. Protein modifications involved in neurotransmitter and gasotransmitter signaling. *Trends Neurosci*, 2010, vol. 33, pp. 493–502.
16. Wang R. The gasotransmitter role of hydrogen sulfide. *Antioxid Redox Signal*, 2003, vol. 5, pp. 493–501.
17. Webley K., Jane A., Bond I. Posttranslational modifications of p53 in replicative senescence overlapping but distinct from those induced by DNA damage. *Molecular and Cellular Biology*, 2000, vol. 20, pp. 2803–2808.
18. Wink D.A., Cook J.A., Kim S. Superoxide modulates the oxidation and nitrosation of thiols by nitric oxide derived reactive intermediates. *J. Biol. Chem.*, 1997, vol. 272, pp. 11147–11151.
19. Yang G., Sun X., Wang R. Hydrogen sulfide-induced apoptosis of human aorta smooth muscle cells via the activation of MAP kinases and caspase-3. *FASEB J.*, 2004, vol. 18, pp. 1782–1784.
20. Zhao R., Gish K., Murphy M. Analysis of p53-regulated gene expression patterns using oligonucleotide arrays. *Genes Dev*, 2000, vol. 8, pp. 981–993.

Starikova Ye.G. (✉), Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Tashireva L.A., Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Vasilieva O.A., Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Yakushina V.D., Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Novitsky V.V., Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Ryazantseva N.V. Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

✉ **Starikova Yelena G.**, Ph.: +7-906-951-7897; e-mail: to-elen@yandex.ru