

УДК 616-006-018-091.818:577.15

## СИСТЕМА ГЛУТАТИОНА УЧАСТВУЕТ В РЕГУЛЯЦИИ АПОПТОЗА ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

Рязанцева Н.В., Носарева О.Л., Степовая Е.А., Закирова Е.В., Наумова А.И., Веснина О.Н., Шахристов Е.В., Орлов Д.С., Якушина В.Д., Новицкий В.В.

Организация, г. Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

### РЕЗЮМЕ

Цель исследования – выявить роль компонентов системы глутатиона в реализации рецепторного пути апоптоза опухолевых клеток линии Jurkat.

Оценку реализации апоптоза проводили методом проточной цитофлуориметрии с использованием FITS-меченного аннексина V и пропидия иодида, количества TNF R1- и Fas-презентирующих клеток; активность каспазы-3 регистрировали спектрофлуориметрическим методом. Определение содержания восстановленного и окисленного глутатиона осуществляли спектрофотометрическим методом.

Материалом для исследования служили опухолевые клетки линии Jurkat: интактные и инкубированные в присутствии селективного ингибитора ключевого фермента синтеза глутатиона – бутионин-сульфоксимины.

Исследование показало, что система глутатиона играет важную регуляторную роль в активации рецепторного пути апоптоза опухолевых клеток линии Jurkat.

Компоненты системы глутатиона являются мишенями для активации запрограммированной гибели при опухолевом росте.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** опухолевые клетки линии Jurkat, апоптоз, TNF, Fas, система глутатиона.

### Введение

Идентификация молекулярных механизмов регуляции апоптоза является актуальным направлением фундаментальных исследований. Известно, что патогенез опухолевого роста сопровождается не только дизрегуляцией апоптоза, но и формированием окислительного стресса в клетках [1, 2]. Активные формы кислорода могут рассматриваться не только с позиции повреждающих агентов, но и как регуляторные молекулы. Регуляция передачи сигнала в клетках связана с изменениями редокс-состояния тиоловых групп в белках и глутатиона. Транспорт электронов по боковым цепям функциональных  $-CH_2-SH$ -групп консервативных остатков цистеина белков обуславливает их редокс-чувствительность [3]. Число установленных редокс-чувствительных путей передачи сигнала в клетках постоянно возрастает. Исследования последних лет

связаны с выяснением роли глутатиона в экспрессии генов, активации факторов транскрипции, внутриклеточной сигнализации, регуляции активности ферментов, апоптоза и других процессах [4, 5]. Так, повышение внутриклеточного уровня восстановленного глутатиона ингибирует экспрессию субъединиц c-Fos и Jun транскрипционного фактора AP-1, участвующего в апоптозе и клеточной пролиферации [6]. Одновременно глутатион участвует в работе глутатион-зависимых ферментов, которым принадлежит ведущая роль не только в обеспечении антиоксидантных процессов, но и в регуляции структуры и функций биологических мембран, обеспечивая адекватное срабатывание рецепторного аппарата клетки. Восстановленный глутатион предотвращает окисление SH-групп или восстанавливает S-S-связи, индуцированные окислительным стрессом, инактивирует свободные радикалы [7].

Цель исследования – выяснить роль компонентов системы глутатиона в реализации рецепторного пути апоптоза опухолевых клеток линии Jurkat.

✉ Носарева Ольга Леонидовна, тел. 8-923-411-19-51;  
e-mail: olnosareva@yandex.ru

## Материал и методы

В работе использовались клетки линии Jurkat (Т-лимфобластный лейкоз человека), полученные из Института цитологии РАН (Россия, г. Санкт-Петербург).

Культивирование опухолевых клеток линии Jurkat проводили суспензионным методом в полной питательной среде (90% RPMI-1640 (Вектор-Бест, Россия), 10% эмбриональной телячьей сыворотки (Invitrogen, США), 0,3 мг/мл L-глутамин (Вектор-Бест, Россия), 2 ммоль Нерес (Flow, Великобритания) и 100 мкг/мл гентамицина). Жизнеспособность клеток оценивали с помощью 0,5%-го раствора трипанового синего (ДИАЭМ, Германия). Для постановки эксперимента использовались культуры клеток, содержащие не более 5% погибших клеток. Для выявления участия глутатиона в реализации рецепторного пути запрограммированной гибели опухолевые клетки инкубировали в течение 18 ч при 37 °С и в 5%-й атмосфере CO<sub>2</sub> в присутствии бутионин-сульфоксимида (BSO) (Sigma, США) – ингибитора ключевого фермента синтеза тиола  $\gamma$ -глутамил-цистеинсинтетазы в конечной концентрации 1 ммоль [8]. После инкубации клетки трижды отмывали 0,01 моль натрий-фосфатным буфером (рН = 7,4) и использовали для определения процента TNF R1-, Fas-позитивных, апоптотически измененных клеток либо ресуспендировали в буфере с добавлением 1% тритона X-100, выдерживали на льду и готовили лизат с сохранением стандартной концентрации клеток для определения активности каспазы-3. Для определения содержания компонентов системы глутатиона лизат опухолевых клеток депротеинировали с 5%-м раствором сульфосалициловой кислоты [9]. Далее оценивали содержание восстановленного (GSH) и окисленного глутатиона (GSSG) методом ферментативной рециркуляции и блокирования SH-групп GSH винилпириридином (Walko, Япония). Для расчета концентрации глутатиона строили калибровочный график, используя раствор GSH и GSSG (Sigma, США) с концентрациями от 3 до 100 мкмоль [10]. Результаты представляли в нмоль/мг белка. Дополнительно рассчитывали величину соотношения GSH/GSSG как показатель редокс-статуса клетки.

Концентрацию белка в пробах определяли методом М.М. Бредфорда [11], используя калибровочный график, построенный на основе стандартных растворов бычьего сывороточного альбумина с концентрациями от 1 до 10 мкг на 100 мкл.

Оценку апоптоза опухолевых клеток проводили методом проточной цитофлюориметрии с использованием FITC-меченного аннексина V и пропидия иодида (BD, Нидерланды) согласно инструкции фирмы-про-

изводителя. Метод основан на специфическом связывании FITC-меченного аннексина V с фосфатидилсеринном и способности пропидия иодида (PI) интеркалировать с молекулой ДНК. Подсчет количества FITC<sup>+</sup>/PI<sup>-</sup> и FITC<sup>+</sup>/PI<sup>+</sup>-меченных клеток осуществляли к общему числу изучаемых клеток и выражали в процентах.

Оценку количества TNF R1- и Fas-презентирующих опухолевых клеток проводили методом проточной цитофлюориметрии с использованием моноклональных антител к человеческому антигену CD120 и CD95 (R&D Systems, США) согласно инструкции фирмы-производителя.

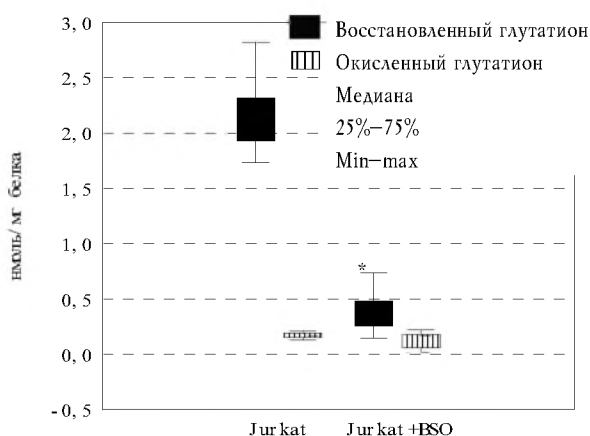
Активность каспазы-3 определяли спектрофлюориметрическим методом по способности избирательного гидролиза синтетического тетрапептидного флюоригенного субстрата N-acetyl-(Asp-Glu-Val-Asp)-7-amino-4-methylcoumarin (Ac-DEVD-AMC) (Sigma, США) с образованием AMC, который флюоресцировал в диапазоне длин волн 430–460 нм (максимум возбуждения флюоресценции при длине волны 380 нм). Активность каспазы-3 выражали в пикомолях освобожденного amino-4-метилкумарина в минуту на 1 мг белка в пробе [12, 13].

Статистическую обработку полученных результатов проводили при помощи программы SPSS 13.0. Проверку нормальности распределения количественных показателей осуществляли с использованием критерия Шапиро–Уилка. Достоверность различий оценивали с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни. Данные представлены в виде медианы *Me*, верхнего и нижнего квартилей (*Q*<sub>1</sub>–*Q*<sub>3</sub>). Наличие связи между показателями проводили с использованием корреляционного анализа по методу Спирмена. Статистически значимыми считались различия при *p* < 0,05.

## Результаты и обсуждение

Добавление в среду инкубирования опухолевых клеток BSO вызывало быстрое истощение пула GSH и сопровождалось статистически значимым снижением его концентрации в 5,1 раз (*p* < 0,05). Однако концентрация дисульфида глутатиона имела сопоставимые значения по сравнению с интактными опухолевыми клетками (рисунк). GSH существует в клетке в равновесии с глутатионом дисульфидом (GSSG), а отношение концентраций GSH/GSSG служит показателем редокс-состояния клетки [7, 14]. В интактных опухолевых клетках величина соотношения GSH/GSSG имела значения, равные 13,1 (11,4–14,2), а при добавлении ингибитора синтеза тиола *de novo* достигался сдвиг отношения GSH/GSSG в сторону возрастания дисульфида и показатель был равен значениям 3,3 (2,5–4,1) (таблица). Известно, что GSSG

является более реакционно-способной молекулой по сравнению с GSH и способен вступать в тиол-дисульфидный обмен с активными SH-группами белков с образованием смешанного дисульфидного комплекса или может окислять эндогенные SH-группы с образованием дисульфидов [7]. Поэтому увеличение концентрации GSSG, сопряженное с истощением пула GSH, способно вызывать глутатионирование редокс-чувствительных белков с ферментативной и рецепторной функцией, в каталитическом домене которых имеются функционально важные остатки цистеина.



Уровень восстановленного и окисленного глутатиона (нмоль/мг белка) в интактных опухолевых клетках линии Jurkat и при действии селективного ингибитора синтеза глутатиона – бутионин-сульфоксимины (BSO); \* – уровень статистической значимости различий по сравнению с интактными опухолевыми клетками линии Jurkat при  $p < 0,05$

Проведение оценки количества апоптотически измененных клеток линии Jurkat в условиях их культивирования со специфическим ингибитором синтеза глутатиона BSO показало статистически значимое увеличение процента аннексин-положительных клеток в 8,8 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с интактной культурой (таблица). Повышенный уровень восстановленной формы глутатиона подавляет запрограммированную клеточную гибель, так как данный тиол регулирует редокс-гомеостаз опухолевой клетки и активность многих транскрипционных факторов, способствующих выживанию опухолевых клеток [6, 15].

Для оценки молекулярных механизмов рецепторной регуляции апоптоза опухолевых клеток в условиях действия блокатора синтеза глутатиона были оценены TNF R1, FAS и каспаза-3. Было показано, что добавление BSO в конечной концентрации 1 ммоль увеличивало в 5,8 раза ( $p < 0,05$ ) и в 18,4 раза ( $p < 0,05$ ) количество клеток, презентующих на своей поверхности TNF R1 и Fas, по сравнению с интактными клетками (таблица).

Содержание аннексин-, TNF R1-, Fas-положительных клеток, активность каспазы-3 и величина соотношения восстановленного глутатиона к окисленному глутатиону в интактных опухолевых клетках линии Jurkat и при действии селективного ингибитора синтеза глутатиона – бутионин-сульфоксимины (BSO), Me (Q<sub>1</sub>–Q<sub>3</sub>)

	Jurkat	Jurkat + BSO
Количество аннексин-положительных клеток, %	5,2 (4,0–5,6)	45,9 (37,5–67,1) $p < 0,05$
Количество TNF-R1-положительных клеток, %	9,5 (7,3–14,2)	55,4 (52,7–70,0) $p < 0,05$
Количество Fas-положительных клеток, %	4,3 (2,1–8,9)	78,9 (77,5–87,2) $p < 0,05$
Каспаза 3, пмоль/(мин · мг белка)	36,6 (22,7–43,9)	134,2 (129,5–140,2) $p < 0,05$
Восстановленный глутатион/окисленный глутатион	13,1 (11,4–14,2)	3,3 (2,5–4,1) $p < 0,05$

Примечание.  $p$  – уровень статистической значимости различий по сравнению с интактными опухолевыми клетками линии Jurkat.

Увеличение количества TNF R1- и FAS-презентирующих клеток, вероятно, связано со снижением редокс-потенциала опухолевых клеток линии Jurkat в присутствии BSO. Это подтверждает наличие отрицательной корреляционной связи между величиной соотношения GSH/GSSG и количеством TNF R1- ( $r = -0,5$ ,  $p < 0,05$ ) и FAS-презентирующих клеток ( $r = -0,5$ ,  $p < 0,05$ ) при добавлении ингибитора синтеза тиола *de novo*. Реализация TNF R1- и FAS-опосредованного пути апоптоза включает в себя активацию киназ. Кроме этого, активированные рецепторы связываются с белками, имеющими домены SH<sub>2</sub>, распознающими фосфотирозин-содержащие последовательности активированного рецептора. Можно предположить, что преобладание GSSG могло повлечь глутатионирование остатков цистеина в белках, обеспечивающих сигнальную трансдукцию. Рядом авторов была показана способность GSSG оказывать рецепторопосредованное влияние на внутриклеточные процессы [16, 17].

Блокирование синтеза глутатиона *de novo* в опухолевой клетке проявлялось активацией эффекторной каспазы-3. Так, в присутствии BSO в опухолевых клетках происходило статистически значимое увеличение активности фермента в 3,7 раза ( $p < 0,05$ ), по сравнению с интактными клетками (таблица). Известно, что при вовлечении клетки в TNF R1- и FAS-опосредованный путь апоптоза происходит прямая активация каспазы-3 посредством каспазы-8 [18]. Исходя из полученных данных, можно заключить, что компоненты системы глутатиона влияют на активацию эффекторной каспазы-3. В связи с этим можно предположить, что соотношение восстановленного глутатиона к окисленному глутатиону регулирует рецепторный путь реализации апоптоза не только через AP-1, NFκB,

Bcl-2, p53 [6, 14, 15], но и напрямую, ингибируя превращение прокаспазы-8 в активную форму, субстратом которой является каспаза-3.

## Заключение

Действие селективного ингибитора ключевого фермента синтеза тиола  $\gamma$ -глутамил-цистеинсинтетазы способствует проведению «смертельных» сигналов внутрь клетки с повышением активности эффекторных каспаз, что неизбежно приводит к увеличению числа клеток, вступивших в апоптоз. В связи с этим, с практической точки зрения, возможность влияния на противоапоптотическую роль восстановленного глутатиона в опухолевых клетках с помощью блокирования его синтеза *de novo* представляет большой интерес для разработки новых подходов для таргетной терапии онкологических заболеваний.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Совета при Президенте Российской Федерации для государственной поддержки ведущих научных школ (соглашение № НШ-4184.2014.7); в рамках Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009–2013 гг.» (соглашения № 8302 и 8487).*

## Литература

1. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З. Бондарь И.А., Труфакин В.А. Окислительный стресс: Патологические состояния и заболевания. Новосибирск: АРТА, 2008. 284 с.
2. Рязанцева Н.В., Новицкий В.В., Часовских Н.Ю., Кайгородова Е.В., Старикова Е.Г., Стариков Ю.В. Роль редокс-зависимых сигнальных систем в регуляции апоптоза при окислительном стрессе // Цитология. 2009. Т. 51, № 4. С. 329–334.
3. Курилова А.С., Крутецкая З.И., Лебедев О.Е., Антонов В.Г. Влияние окисленного глутатиона и его фармакологического аналога препарата глутоксим на внутриклеточную концентрацию  $Ca^{2+}$  в макрофагах // Цитология. 2008. Т. 50, № 5. С. 452–461.
4. Aslan M., Sanatan D. Modulation of redox pathways in neutrophils from sickle cell disease patients // Exp. Nema-

- tol. 2008. V. 36 (11). P. 1535–1544.
5. Desideri E., Filomeni G., Ciriolo M.R. Glutathione participates in the modulation of starvation-induced autophagy in carcinoma cells // Autophagy. 2012. V. 8 (12). P. 1769–1781.
6. Октябрьский О.Н., Смирнова Г.В. Редокс-регуляция клеточных функций // Биохимия. 2007. Т. 72. Вып. 2. С. 158–174.
7. Кулинский В.И., Колесниченко А.С. Глутатион ядра клетки и его функции // Биомедицинская химия. 2010. Т. 56. Вып. 6. С. 657–662.
8. Laragione T., Gianazza E., Tonelli R., Bigini P., Mennini T., Casoni F., Massignan T., Bonetto V., Ghezzi P. Regulation of redox-sensitive exofacial protein thiols in CHO cells // Biol. Chem. 2006. V. 387 (10–11). P. 1371–1376.
9. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты организма. СПб., 2000. 103 с.
10. Kojima S., Nakayama K., Ishida H. Low dose gamma-rays activate immune functions via induction of glutathione and delay tumor growth // J. Radiat. Res. 2004. V. 45, № 1. P. 33–39.
11. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Analyt. Biochem. 1976. V. 7, № 1, 2. P. 248–254.
12. Cohen G.M. Caspases: the executioners of apoptosis // Biochem. J. 1997. V. 326. P. 1–16.
13. Nicholson D.W. Caspase structure, proteolytic substrates, and function during apoptotic cell death // Cell Death and Differentiation. 1999. V. 6. P. 1028–1042.
14. Зенков Н.К., Меньщикова Е.Б., Ткачев В.О. Некоторые принципы и механизмы редокс-регуляции // Кислород и антиоксиданты. 2009. Вып. 1. С. 3–64.
15. Raza H., John A., Howarth F.C. Alterations in glutathione redox metabolism, oxidative stress, and mitochondrial function in the left ventricle of elderly Zucker diabetic fatty rat heart // Int. J. Mol. Sci. 2012. V. 13 (12). P. 16241–16254.
16. Filomeni G., Rotilio G., Ciriolo M.R. Disulfide relays and phosphorylative cascades: partners in redox-mediated signaling pathways // Cell Death Differ. 2005. V. 12 (12). P. 1555–1563.
17. Бурова Е.Б., Василенко К.П., Антонов В.Г., Никольский Н.Н. Трансактивация рецептора эпидермального фактора роста окисленным глутатионом и его фармакологическим аналогом Глутоксим в клетках A431 // Докл. РАН. 2005. Т. 404 (1). С. 122–124.
18. Беленичев И.Ф., Черный В.И., Колесник Ю.М. и др. Рациональная нейропротекция. Донецк: Издатель Заславский А.Ю., 2009. 262 с.

Поступила в редакцию 05.05.2014 г.

Утверждена к печати 09.10.2014 г.

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

Носарева О.Л. (✉) — канд. мед. наук, кафедра биохимии и молекулярной медицины СибГМУ (г. Томск).

Степовая Е.А. — д-р мед. наук, профессор, СибГМУ (г. Томск).

Закирова Е.В., СибГМУ (г. Томск).

Наумова А.И., СибГМУ (г. Томск).

Веснина О.Н., СибГМУ (г. Томск).

Шахристова Е.В. — канд. мед. наук, СибГМУ (г. Томск).

Орлов Д.С., СибГМУ (г. Томск).

Якушина В.Д., СибГМУ (г. Томск).

Новицкий В.В. — д-р мед. наук, профессор, академик РАН, зав. кафедрой патофизиологии СибГМУ (г. Томск).

✉ Носарева Ольга Леонидовна, тел. 8-923-411-19-51; e-mail: olnosareva@yandex.ru

## THE GLUTATHIONE SYSTEM IS INVOLVED IN REGULATION OF TUMOR CELLS APOPTOSIS

Ryazantseva N.V., Nosareva O.L., Stepovaya Ye.A., Zakirova Ye.V., Naumova A.I., Vesnina O.N., Shakhristova Ye.V., Orlov D.S., Yakushina V.D., Novitsky V.V.

Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

### ABSTRACT

The research objective is to determine the role of the glutathione system components in realization of the receptor pathway of Jukart tumor cell apoptosis.

Apoptosis realization using FITC-labeled annexin V and propidium iodide as well as the amount of TNF R1- and Fas-presenting cells has been evaluated by flow cytofluorometry; activity caspase-3 registered a spektrofilyuorimetrichesky method. The concentration of reduced and oxidated glutathione has been determined by spectrophotometry.

The material for the research was intact Jukart tumor cells and the ones incubated in the presence of a selective inhibitor of the key glutathione synthesis enzyme – buthionine-sulfoximine.

The research has shown that the glutathione system plays an important regulatory role in activation of the receptor pathway of Jukart tumor cell apoptosis.

The glutathione system components are targets for activation of programmed cell death in tumor growth.

**KEY WORDS:** Jukart tumor cells, apoptosis, TNF, Fas, glutathione system.

*Bulletin of Siberian Medicine*, 2014, vol. 13, no. 5, pp. 73–78

### References

1. Men'shchikova E.B., Zenkov N.K., Lankin V.Z. Bondar' I.A., Trufakin V.A. *Oxidizing stress: Pathological states and diseases*. Novosibirsk, ARTA Publ., 2008. 284 p.
2. Ryazantseva N.V., Novitsky V.V., Chasovskikh N.Yu., Kajorodova Ye.V., Starikova Ye.G., Starikov Yu.V. Role of redox-dependent alarm systems in regulation of apoptosis at an oxidizing stress. *Tsitologiya – Cytology*, 2009, vol. 51, no. 4, pp. 329–334 (in Russian).
3. Kurilova L.S., Kruteckaja Z.I., Lebedev O.E., Antonov V.G. Influence of the oxidized glutathione and its pharmacological analog of a preparation glutoksy on intracellular concentration of Ca<sup>2+</sup> in macrophages. *Tsitologiya – Cytology*, 2008, vol. 50, no. 5, pp. 452–461 (in Russian).
4. Aslan M., Canatan D. Modulation of redox pathways in neutrophils from sickle cell disease patients. *Exp. Hematol.*, 2008, vol. 36 (11), pp. 1535–1544.
5. Desideri E., Filomeni G., Ciriolo M.R. Glutathione participates in the modulation of starvation-induced autophagy in carcinoma cells. *Autophagy*, 2012, vol. 8 (12), pp. 1769–1781.
6. Oktjabr'sky O.N., Smirnova G.V. Redox-regulation cellular functions *Biokhimiya – Biochemistry*, 2007, vol. 72, vyp. 2, pp. 158–174 (in Russian).
7. Kulinsky V.I., Kolesnichenko L.S. Glutathione of a kernel of a cage and its function. *Biomeditsinskaya khimiya – Biochemistry*, 2010, vol. 56, vyp. 6, pp. 657–662 (in Russian).
8. Laragione T., Gianazza E., Tonelli R., Bigini P., Mennini T., Casoni F., Massignan T., Bonetto V., Ghezzi P. Regulation of redox-sensitive exofacial protein thiols in CHO cells. *Biol Chem.*, 2006, vol. 387 (10–11), pp. 1371–1376.
9. Arutyunyan A.V., Dubinina E.E., Zyibina N.N. Methods of an assessment of free radical oxidation and antioxidant protection of an organism. St. Petersburg, 2000. 103 p. (in Russian).
10. Kojima S., Nakayama K., Ishida H. Low dose gamma-rays activate immune functions via induction of glutathione and delay tumor growth. *J. Radiat. Res.*, 2004, vol. 45, no. 1, pp. 33–39.
11. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analyt. Biochem.*, 1976, vol. 7, no. 1–2, pp. 248–254.

12. Cohen G.M. Caspases: the executioners of apoptosis. *Biochem. J.*, 1997, vol. 326, pp. 1–16.
13. Nicholson D.W. Caspase structure, proteolytic substrates, and function during apoptotic cell death. *Cell Death and Differentiation*, 1999, vol. 6, pp. 1028–1042.
14. Zenkov N.K., Men'shchikova E.B., Tkachev V.O. Some principles and mechanisms of redox-regulation. *Kislород i antioksidanty – Oxygen and antioxidants*, 2009, vol. 1, pp. 3–64 (in Russian).
15. Raza H., John A., Howarth F.C. Alterations in glutathione redox metabolism, oxidative stress, and mitochondrial function in the left ventricle of elderly Zucker diabetic Fatty rat heart. *Int. J. Mol. Sci.*, 2012, vol. 13 (12), pp. 16241–16254.
16. Filomeni G., Rotilio G., Ciriolo M.R. Disulfide relays and phosphorylative cascades: partners in redox-mediated signaling pathways. *Cell Death Differ.*, 2005, vol. 12 (12), pp. 1555–1563.
17. Burova E.B., Vasilenko K.P., Antonov V.G., Nikol'sky N.N. Transaktivation of a receptor of an epidermal factor of growth by the oxidized glutathione and its pharmacological analog Glutoksy A431 in cages. *Dokl. Russian Academy of Sciences*, 2005, vol. 404 (1), pp. 122–124. (in Russian).
18. Belenichev I.F., Cherniy V.I., Kolesnik Yu.M. et al. *Rational neuropatronage*. Donetsk, Izdatel Zaslavskiy A.Yu. Publ., 2009. 262 p. (in Russian).

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

Nosareva O.L. (✉), Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Stepovaya Ye.A., Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Zakirova Ye.V., Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Naumova A.I., Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Vesnina O.N., Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Shakhrystova Ye.V., Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Orlov D.S., 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.

✉ Nosareva O.L., Ph. +7-923-411-19-51; e-mail: olnosareva@yandex.ru