

МЕХАНИЗМЫ ДИЗРЕГУЛЯЦИИ АПОПТОЗА ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ЛИНИИ P19 В УСЛОВИЯХ МОДУЛЯЦИИ РЕДОКС-СТАТУСА

Д.С. Орлов¹, Н.В. Рязанцева^{2,3}, Е.А. Степовая¹, О.Л. Носарева¹,
Е.В. Шахристова¹, В.В. Иванов¹

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Томск¹
ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет», г. Красноярск²
ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, г. Красноярск³
634050, г. Томск, Московский тракт, 2, e-mail: DOC_esperanzo@mail.ru¹

Аннотация

Введение. Изменение редокс-статуса опухолевых клеток может использоваться как один из молекулярных механизмов регуляции апоптоза, нацеленный на повышение восприимчивости опухолевых клеток к действию химиотерапевтических агентов. **Цель исследования** – изучение механизмов дизрегуляции апоптоза опухолевых клеток линии P19 в условиях модуляции редокс-статуса. **Материал и методы.** В ходе проведенного исследования комплексную оценку апоптоза в клетках опухолевой линии P19 осуществляли методом проточной цитофлуориметрии. Определяли количество аннексин-положительных клеток, экспрессию CD95 и CD120, а также процент клеток со сниженным трансмембранным потенциалом и внутриклеточную концентрацию ионов кальция. Содержание белковосвязанного глутатиона и величину соотношения восстановленной формы трипептида к окисленной определяли спектрофотометрическим методом. Для модуляции редокс-статуса использовали блокатор или протектор SH-групп, либо N-ацетилцистеин. **Результаты.** Инкубация культуры в присутствии блокатора SH-групп приводила к дисбалансу системы глутатиона на фоне увеличения содержания его фракции, связанной с белками. Снижение редокс-статуса приводило к увеличению экспрессии CD95 и CD120 на мембране опухолевых клеток линии P19, а также к снижению митохондриального потенциала и повышению внутриклеточной концентрации ионов кальция, что способствовало запуску апоптоза. Количество аннексин-положительных клеток увеличивалось при действии блокатора SH-групп и в присутствии N-ацетилцистеина. **Заключение.** В опухолевых клетках линии P19 на фоне развития окислительного стресса выявлены молекулярные редокс-зависимые механизмы дизрегуляции апоптоза по митохондриальному и рецепторопосредованному пути.

Ключевые слова: апоптоз, белковосвязанный глутатион, окислительный стресс, опухолевый рост.

Актуальным направлением в изучении патогенеза опухолевого роста является анализ молекулярных механизмов дизрегуляции апоптоза. Формирование окислительного стресса при опухолевом прогрессировании вносит значительный вклад в определение судьбы клетки за счет вызванной посттрансляционной модификации белков. Оценка возможностей изменения редокс-статуса клетки и вклада процесса глутатионилирования белков в регуляторную активность ион-транспортующих систем позволит вскрыть молекулярные механизмы модификации белковых молекул клетки и дизрегуляции апоптоза [1].

Роль изменений редокс-статуса в реализации запрограммированной гибели клеток неоднозначна и во многом зависит от конкретных условий микроокружения клетки и типа клеточной линии [2]. Особый интерес для экспериментальной онкологии представляют исследования, направленные на изучение общих и частных редокс-механизмов

дизрегуляции апоптоза опухолевых клеток. Согласно современным представлениям, модуляция редокс-статуса приводит к перестройке внутриклеточных сигнальных систем, в том числе за счет глутатионилирования белков.

Целью работы явилась оценка роли глутатионилирования белков и изменения внутриклеточного редокс-статуса в дизрегуляции апоптоза опухолевых клеток линии P19.

Материал и методы

Материалом для исследования служили опухолевые клетки линии P19 (тератокарцинома мыши), полученные из Российской коллекции клеточных культур Института цитологии РАН (г. Санкт-Петербург). Культивирование опухолевых клеток проводили адгезионным методом в полной питательной среде α -MEM («БиолоТ», Россия), содержащей 10 % инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки («БиолоТ»,

Россия), L-глутамин (0,3 мг/мл) («БиолоТ», Россия) и гентамицин (100 мкг/мл) («Микроген», Россия) в CO₂-инкубаторе («Sanyo», Япония) при 37°C в атмосфере 5 % CO₂. Культуру поддерживали в логарифмической фазе роста и пересаживали каждые 2 дня. Жизнеспособность клеток оценивали с помощью 0,5 % раствора трипанового синего («Serva», США). Для постановки эксперимента использовались культуры, содержащие не более 5 % погибших клеток.

Модуляцию редокс-статуса клеток осуществляли с помощью добавления в культуральную среду блокатора SH-групп белков и пептидов N-этилмалеимида (NEM), предшественника синтеза глутатиона N-ацетилцистеина (NAC) и протектора тиоловых групп белков и пептидов 1,4-дитиоэритритола (DTE) («Sigma-Aldrich», США) в концентрации 5 мМ. Попадая в клетку, NEM необратимо взаимодействует со свободными SH-группами пептидов и белков, NAC принимает участие в синтезе глутатиона (основного низкомолекулярного антиоксиданта), а DTE обладает способностью восстанавливать дисульфидные связи.

Величину отношения восстановленной формы глутатиона (GSH) к окисленной (GSSG) определяли методом, предложенным М.Е. Anderson (1985) в модификации I. Rahman et al. (2006) [3]. Определяли содержание белково-связанного глутатиона методом [4], основанным на способности 1 % боргидрида натрия высвобождать GSH из связи с белками. Результаты представляли в нмоль/мг белка. Содержание белка в клетках определяли по взаимодействию красителя Кумасси голубого G-250 с остатками аминокислот лизина и аргинина белковых молекул [5].

Оценку количества клеток линии P19 в состоянии апоптоза проводили методом проточной цитофлуориметрии с помощью аннексина-V, меченного FITC, и витального красителя пропидия йодида (PI) в соответствии с инструкцией фирмы-производителя (eBioscience, США). Анализ проводили на проточном цитофлуориметре FACSCanto II (BD, США) с использованием программного обеспечения FACSDiva Version 6.1.3. Количество клеток, презентующих на своей поверхности CD95 и CD120, определяли методом проточной цитофлуориметрии с помощью набора моноклональных антител к соответствующим антигенам (R&D Systems, США) согласно протоколу производителя. Интенсивность флуоресценции выражали в условных единицах (у.е.). Оценку концентрации ионов кальция в цитоплазме опухолевых клеток линии P19 проводили методом, основанным на определении интенсивности флуоресценции липофильного зонда Fluo 3 AM (Sigma-Aldrich, США), проникающего в клетку и связывающего Ca²⁺ [6]. Параметры флуоресценции зонда оценивали на проточном цитофлуориметре FACSCanto™ II, результаты выражали в условных единицах. Для

анализа митохондриального мембранного потенциала использовался набор Flow Cytometry Mitochondrial Membrane Potential Detection Kit (BD, США). Распределение клеток по каналам флуоресценции (FL-1 и FL-2) анализировали на проточном цитофлуориметре FACSCanto II.

Статистическая обработка полученных данных выполнялась с использованием программы SPSS 17.0. Проверку нормальности распределения количественных показателей проводили с использованием критерия Шапиро – Уилка. Достоверность различий оценивали с помощью непараметрических критериев Краскела – Уоллиса и Манна – Уитни. Данные представляли в виде медианы (Me), верхнего и нижнего квартилей (Q₁–Q₃). Статистически значимыми считались различия при p<0,05 [7].

Результаты и обсуждение

Восприимчивость различных типов опухолевых клеток к выраженному окислительному стрессу делает его хорошей потенциальной терапевтической мишенью для разработки новых противоопухолевых агентов. При этом возрастает количество обнаруживаемых молекулярных механизмов, вносящих вклад в формирование состояния окислительного стресса в клетке. К упомянутым механизмам в первую очередь относятся повышение продукции активных форм кислорода, а также истощение системы антиоксидантной защиты в клетке. По современным представлениям, нарушение работы системы антиоксидантной защиты может приводить к формированию состояния окислительного стресса и запуску запрограммированной гибели опухолевых клеток [7]. В результате нашего исследования было установлено, что под воздействием блокатора SH-групп белков и пептидов N-этилмалеимида в клетках опухолевой линии P19 возникали признаки нарушения редокс-гомеостаза, такие как снижение величины отношения восстановленного глутатиона к окисленному и увеличение концентрации белковосвязанного глутатиона (табл. 1) и активации апоптоза (табл. 2).

Проведена оценка состояния редокс-статуса клеток на основании величины отношения концентраций восстановленной и окисленной форм глутатиона после инкубации опухолевой линии P19 с блокатором (NEM) или протектором (DTE) SH-групп, а также с предшественником синтеза глутатиона (NAC) в конечной концентрации 5 мМ. В результате установлено снижение в 9 раз величины отношения GSH/GSSG в клетках линии P19 в условиях воздействия NEM (p<0,05) по сравнению с интактной культурой. Выявленные изменения указывают на нарушение редокс-гомеостаза и формирование состояния окислительного стресса.

Снижение редокс-статуса тиолдисульфидной системы в результате воздействия блокатора SH-групп сопровождалось повышением концентрации

Таблица 1

Величина отношения восстановленного глутатиона к окисленному и содержание белковосвязанного глутатиона в опухолевых клетках линии P19 при культивировании в условиях модуляции редокс-статуса, Me (Q₁-Q₃)

Исследуемые показатели	Условия культивирования опухолевых клеток линии P19			
	P19	P19 + NEM	P19 + NAC	P19 + DTE
GSH/GSSG	18,44 (13,15–20,29)	2,04 (1,69–5,36)*	14,49 (9,68–17,29)	23,71 (12,91–24,68)
Белковосвязанный глутатион, нмоль/мг белка	0,60 (0,58 – 0,74)	2,45 (2,36–2,87)*	0,76 (0,72–0,78)	0,78 (0,67–0,83)

Примечание: * – различия между группами P19 и P19+N-этилмалеимид(NEM) статистически значимы (p<0,05).

Таблица 2

Количество клеток со сниженным митохондриальным потенциалом, аннексин-положительных клеток, уровень экспрессии CD95 и CD120, внутриклеточная концентрация ионов кальция в опухолевых клетках линии P19 при культивировании в условиях модуляции редокс-статуса, Me (Q₁-Q₃)

Исследуемые показатели	Условия культивирования опухолевых клеток линии P19			
	P19	P19 + NEM	P19 + NAC	P19 + DTE
Annexin V-FITC+, %	2,65 (2,20–3,40)	95,35 (92,70–95,60)*	4,50 (3,70–5,20)**	3,20 (3,20–4,30)
CD120, у.е.	0,8 (0,7–0,9)	6,0 (5,6–7,4)*	1,0 (0,9–1,0)	2,0 (1,7–2,2)***#
CD95, у.е.	0,9 (0,7–0,9)	21,9 (21,4–23,5)*	1,3 (1,2–1,3)**	1,4 (1,2–1,5)***
Клетки со сниженным митохондриальным потенциалом, %	3,4 (3,2–3,5)	93,1 (92,5–96,2)*	5,8 (5,7–5,9)**	4,0 (3,9–4,1)***#
Внутриклеточная концентрация Ca ²⁺ , у.е.	7,84 (7,78–7,88)	29,04 (28,91–29,10)*	8,03 (7,96–8,04)**	9,82 (9,63–9,88)**#

Примечание: * – различия между группами P19 и P19+N-этилмалеимид(NEM); ** – различия между группами P19 и P19 + N-ацетилцистеин(NAC); *** – различия между группами P19 и P19 + 1,4-дифенилэритритол(DTE); # – различия между группами P19 + NAC и P19 + DTE – статистически значимы (p<0,05).

белковосвязанного глутатиона в 4 раза (p<0,05) по сравнению с интактной культурой. Таким образом, достигается защита функциональных тиоловых групп внутриклеточных белков от необратимого повреждения прооксидантами. Более того, глутатионирование белков, как один из механизмов обратной окислительной модификации, играет важную роль в модуляции их активности, что приводит к изменению функциональных свойств опухолевых клеток [1].

Экспрессия молекул, участвующих в реализации рецепторного пути апоптоза (CD95 и CD120) в различных типах клеток, подвержена строгому контролю, поскольку её повышение делает клетки высокочувствительными к запуску апоптоза соответствующими лигандами. Однако механизмы такого контроля по-прежнему остаются изученными не полностью, в том числе и в опухолевых клетках. Вероятнее всего, значительное повышение презентации рецепторов смерти клетками тератокарциномы при воздействии блокатора SH-групп указывает на важную роль изменений

редокс-гомеостаза в реализации запрограммированной гибели клеток по рецепторному пути. Сопоставляя собственные данные с данными других авторов, можно заключить, что снижение редокс-статуса клеток способствует запуску рецепторного пути активации апоптоза [8]. Ранним маркером активации апоптоза по митохондриальному пути является снижение трансмембранного потенциала ($\Delta\Psi_m$), приводящее в дальнейшем к выходу цитохрома в цитоплазму и формированию апоптосомы. Увеличение количества опухолевых клеток со сниженным значением $\Delta\Psi_m$ под действием блокатора SH-групп указывает на важную роль редокс-зависимых механизмов в регуляции митохондриального пути апоптоза в клетках линии P19.

Система глутатиона может участвовать в регуляции внутриклеточной сигнализации также посредством глутатионирования и сопутствующего изменения активности ион-транспортирующих систем. Показанное увеличение концентрации ионов кальция в цитоплазме опухолевых клеток

линии P19 в 3,7 раза относительно контроля ($p < 0,05$) в условиях нарушения редокс-гомеостаза (при добавлении NEM в культуральную среду) приводило к запуску апоптоза в 95 % клеток в культуре. Как основные участники апоптоза белки семейства Bcl-2 модулируют внутриклеточные сигналы, многие белки данного семейства меняют свою активность при изменении внутриклеточного редокс-статуса. Например, проапоптотический белок Вах, требующий гомодимеризации для превращения в активную форму, активируется за счет формирования дисульфидных связей [9]. В связи с этим можно обсуждать роль редокс-статуса в молекулярных механизмах дизрегуляции апоптоза опухолевых клеток.

Однако воздействие DTE и NAC не приводило к значимому изменению величины отношения GSH/GSSG и концентрации белковосвязанного глутатиона, но вызывало достоверные изменения маркеров активации митохондриального и рецепторопосредованного путей запуска апоптоза. Нами выявлены изменения экспрессии CD95 и CD120, внутриклеточной концентрации Ca^{2+} и митохондриального трансмембранного потенциала. Тем

не менее это не означает, что редокс-зависимые механизмы в данных условиях не вовлечены в регуляцию запрограммированной гибели клеток. Так, известно, что NAC и DTE могут влиять на состояние редокс-чувствительных центров внутриклеточных белков, например факторов транскрипции (NF- κ B, AP-1, p53) [10].

Заключение

Снижение редокс-статуса клетки вносит существенный вклад в запуск апоптоза по митохондриальному и рецепторопосредованному пути в опухолевых клетках линии P19. В проведенном исследовании установлено, что формирование выраженного окислительного стресса при действии блокатора тиоловых групп белков и пептидов в клетке вызывает повышение глутатионирования белков, играющее важную роль в молекулярных механизмах дизрегуляции апоптоза опухолевых клеток. Поскольку опухолевые клетки существуют в условиях окислительного стресса, редокс-регуляция функций внутриклеточных белков может быть перспективным направлением в таргетной терапии злокачественных новообразований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Октябрьский О.Н., Смирнова Г.В. Редокс-регуляция клеточных функций. Биохимия. 2007; 72 (2): 158–175.
2. Степовая Е.А., Рязанцева Н.В., Носарева О.Л., Закирова Е.В., Наумова А.И., Веснина О.Н., Орлов Д.С., Шахристова Е.В., Иванов В.В., Новицкий В.В. Роль окислительной модификации белков в редокс-зависимой регуляции апоптоза опухолевых клеток. Молекулярная медицина. 2015; 4: 60–64.
3. 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 Mar; 45 (1): 33–9.
4. Burchill B.R., Oliver J.M., Pearson C.B., Leinbach E.D., Berlin R.D. Microtubule dynamics and glutathione metabolism in phagocytizing human polymorphonuclear leukocytes. J Cell Biol. 1978; 76 (2): 439–447.
5. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem. 1976 May 7; 72: 248–54.

6. Merritt J.E., Carthy Mc S.A., Davies M.P., Moores K.E. Use of fluo-3 to measure cytosolic Ca^{2+} in platelets and neutrophils. Loading cells with the dye, calibration of traces, measurements in the presence of plasma, and buffering of cytosolic Ca^{2+} . Biochem J. 1990 Jul 15; 269 (2): 513–9.
7. Глазу С. Медико-биологическая статистика. М., 1998. 459 с.
8. Trachootham D., Lu W., Ogasawara M.A., Nilsa R.D., Huang P. Redox regulation of cell survival. Antioxid Redox Signal. 2008 Aug; 10 (8): 1343–74. doi: 10.1089/ars.2007.1957.
9. D'Alessio M., Nicola M. De, Coppola S., Gualandi G., Pugliese L., Cerella C., Cristofanon S., Civitareale P., Ciriolo M.R., Bergamaschi A., Magrini A., Ghibelli L. Oxidative Bax dimerization promotes its translocation to mitochondria independently of apoptosis. FASEB J. 2005 Sep; 19 (11): 1504–6.
10. Buzek J., Latonen L., Kurki S., Peltonen K., Laiho M. Redox state of tumor suppressor p53 regulates its sequence-specific DNA binding in DNA-damaged cells by cysteine 277. Nucleic Acids Res. 2002 Jun 1; 30 (11): 2340–8.

Поступила 13.09.16

Принята в печать 30.10.16

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Орлов Дмитрий Сергеевич, интерн кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, Сибирский государственный медицинский университет (г. Томск, Российская Федерация). E-mail: DOC_esperanzo@mail.ru. SPIN-код: 3625-3717.

Рязанцева Наталья Владимировна, доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории биолюминесцентных биотехнологий, институт фундаментальной биологии и биотехнологии, Сибирский федеральный университет; профессор кафедры биологической химии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии, Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого (г. Красноярск, Российская Федерация). E-mail: nv_gyazan@mail.ru. SPIN-код: 9162-0832.

Степовая Елена Алексеевна, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, Сибирский государственный медицинский университет (г. Томск, Российская Федерация). E-mail: muiir@mail.ru. SPIN-код: 5562.

Носарева Ольга Леонидовна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом КЛД, Сибирский государственный медицинский университет (г. Томск, Российская Федерация). E-mail: olnosareva@yandex.ru. SPIN-код: 5688-7566.

Шахристова Евгения Викторовна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, руководитель НОЦ молекулярной медицины, Сибирский государственный медицинский университет (г. Томск, Российская Федерация). E-mail: shaxristova@yandex.ru. SPIN-код: 8125-6414.

Иванов Владимир Владимирович, кандидат биологических наук, доцент кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом КЛД, заведующий лабораторией биологических моделей, Сибирский государственный медицинский университет (г. Томск, Российская Федерация). E-mail: ivanovvv1953@gmail.com. SPIN-код: 4961-9959.

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов, о котором необходимо сообщить

MECHANISMS OF APOPTOSIS DYSREGULATION IN CANCER CELLS UNDER THE CONDITIONS OF REDOX STATUS MODULATION

D.S. Orlov¹, N.V. Ryazantseva^{2,3}, E.A. Stepovaya¹, O.L. Nosareva¹, E.V. Shakhristova¹, V.V. Ivanov¹

Siberian State Medical University, Russia, Tomsk¹

Siberian Federal University, Russia, Krasnoyarsk²

Krasnoyarsk State Medical University named after Professor V.F. Voyno-Yasenetsky, Russia, Krasnoyarsk³
2, Moskovsky Tract, 634050-Tomsk, Russia, e-mail: DOC_esperanzo@mail.ru¹

Abstract

Introduction. Changes in the redox status of tumor cells can be used as one of the molecular mechanisms of apoptosis aimed at increasing the susceptibility of tumor cells to chemotherapeutic agents. **Purpose:** to study the mechanisms of dysregulation of apoptosis in P19 tumor cells under the conditions of redox status modulation. **Material and methods.** Apoptosis in P19 tumor cells was assessed by flow cytometry analysis. The number of annexin-positive cells, the expression of CD95 and CD120, as well as the intracellular calcium ion concentration and the percentage of cells with reduced mitochondrial transmembrane potential were measured. The protein-glutathione mixed-disulfide level and the GSH/GSSG ratio were determined by spectrophotometry. To modulate redox status of cells, the protector and blocker of SH-groups, or N-acetylcysteine were used. **Results.** Incubation of cultures in the presence of SH-group blocker resulted in the imbalance in the glutathione system with increased concentration of glutathionylated proteins. A decreased redox status led to an increased CD95 and CD120 expression levels on the membrane of P19 tumor cells, as well as to decreased mitochondrial potential and increased intracellular calcium ion concentration, thus contributing to the launch of a P19 tumor cells. The presence of SH-group blocker and N-acetylcysteine resulted in an increased number of annexin-positive cells. **Conclusion.** Along with the development of oxidative stress, the molecular redox-dependent mechanisms of apoptosis dysregulation through the mitochondrial and receptor-mediated pathways were identified in the P19 tumor cells.

Key words: apoptosis, glutathionylated protein, oxidative stress, tumor growth.

REFERENCES

1. *Oktyabr'skiy O.N., Smirnova G.V.* Redox regulation of cellular functions. *Biokhimiya*; 72 (2): 158–174. [in Russian]
2. *Stepovaya E.A., Ryazantseva N.V., Nosareva O.L., Zakirova E.V., Naumova A.I., Vesnina O.N., Orlov D.S., Shakhristova E.V., Ivanov V.V., Novitskiy V.V.* The role of oxidative protein modification in redox-dependent regulation of tumor cell apoptosis. *Molekulyarnaya meditsina*. 2015; 4: 60–64. [in Russian]
3. *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 Mar; 45 (1): 33–9.
4. *Burchill B.R., Oliver J.M., Pearson C.B., Leinbach E.D., Berlin R.D.* Microtubule dynamics and glutathione metabolism in phagocytizing human polymorphonuclear leukocytes. *J Cell Biol*. 1978; 76 (2): 439–447.
5. *Bradford M.M.* A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 1976 May 7; 72: 248–54.
6. *Merritt J.E., Carthy Mc S.A., Davies M.P., Moores K.E.* Use of fluo-3 to measure cytosolic Ca²⁺ in platelets and neutrophils. Loading cells with

the dye, calibration of traces, measurements in the presence of plasma, and buffering of cytosolic Ca²⁺. *Biochem J*. 1990 Jul 15; 269 (2): 513–9.

7. *Glantz S.* *Medicobiological statistics*. Moscow, 1998. 459 p. [in Russian]

8. *Trachootham D., Lu W., Ogasawara M.A., Nilisa R.D., Huang P.* Redox regulation of cell survival. *Antioxid Redox Signal*. 2008 Aug; 10 (8): 1343–74. doi: 10.1089/ars.2007.1957.

9. *D'Alessio M., Nicola M. De, Coppola S., Gualandi G., Pugliese L., Cerella C., Cristofanon S., Civitareale P., Ciriolo M. R., Bergamaschi A., Magrini A., Ghibelli L.* Oxidative Bax dimerization promotes its translocation to mitochondria independently of apoptosis. *FASEB J*. 2005 Sep; 19 (11): 1504–6.

10. *Buzek J., Latonen L., Kurki S., Peltonen K., Laiho M.* Redox state of tumor suppressor p53 regulates its sequence-specific DNA binding in DNA-damaged cells by cysteine 277. *Nucleic Acids Res*. 2002 Jun 1; 30 (11): 2340–8.

Received 13.09.16
Accepted 30.10.16

ABOUT THE AUTHORS

Orlov Dmitry S., MD, intern, Department of Biochemistry and Molecular Biology with a Course of Clinical Laboratory Diagnostics, Siberian State Medical University (Tomsk, Russian Federation). E-mail: DOC_esperanzo@mail.ru. SPIN-code: 3625-3717.

Ryazantseva Natalia V., MD, DSc, Professor, Principal Investigator, Laboratory of Bioluminescent Biotechnology, Institute of Molecular Biology and Biotechnology, Siberian Federal University; Department of Biological Chemistry with Courses of Medical, Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, Krasnoyarsk State Medical University named after Professor V.F. Voino-Yasenetsky (Krasnoyarsk, Russian Federation). E-mail: nv_ryazan@mail.ru. SPIN-code: 9162-0832.

Stepovaya Elena A., MD, DSc, Professor, Department of Biochemistry and Molecular Biology with a Course of Clinical Laboratory Diagnostics, Siberian State Medical University (Tomsk, Russian Federation). E-mail: muir@mail.ru. SPIN-code: 5562-4522.

Nosareva Olga L., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Biochemistry and Molecular Biology with a Course of Clinical Laboratory Diagnostics, Siberian State Medical University (Tomsk, Russian Federation). E-mail: olnosareva@yandex.ru. SPIN-code: 5688-7566.

Shakhristova Evgenia V., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Biochemistry and Molecular Biology with a Course of Clinical Laboratory Diagnostics, Head of Science and Education Center of Molecular Medicine, Siberian State Medical University (Tomsk, Russian Federation). E-mail: shaxristova@yandex.ru. SPIN-code: 8125-6414.

Ivanov Vladimir V., PhD, Associate Professor of the Department of Biochemistry and Molecular Biology with a Course of Clinical Laboratory Diagnostics, Head of Laboratory of Biological Models, Siberian State Medical University (Tomsk, Russian Federation). E-mail: ivanovvv1953@gmail.com. SPIN-code: 4961-9959.

Authors declare lack of the possible conflicts of interests