

Е.В. Шахристова*, Е.А. Степовая, Е.В. Рудиков, О.С. Сушицкая,
Д.О. Родионова, В.В. Новицкий

Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Российская Федерация

Участие редокс-белков в блокировании пролиферации клеток эпителия молочной железы в условиях окислительного стресса

Обоснование. В патогенезе ряда заболеваний важную роль играет нарушение редокс-статуса клеток на фоне развития окислительного стресса. Многие внутриклеточные белки содержат свободные тиоловые группы и подвергаются редокс-регуляции, что является одним из важнейших процессов управления пролиферацией. Тиоредоксин и глутаредоксин, участвуя в поддержании внутриклеточного редокс-гомеостаза, могут рассматриваться в качестве макромолекул, способных регулировать пролиферацию, что открывает перспективы дальнейшей разработки методов диагностики и таргетной терапии заболеваний, сопровождающихся окислительным стрессом. **Цель исследования** — выявить участие редоксзависимых протеинов в молекулярных механизмах регуляции пролиферации клеток эпителия молочной железы линии HBL-100 при действии блокатора клеточного цикла росковитина на фоне развития окислительного стресса. **Методы.** Сформированы две группы исследования, включающие клетки эпителия молочной железы человека линии HBL-100, инкубируемые в течение 18 ч с добавлением 20 мкМ росковитина или без него. Определяли внутриклеточное содержание тиоредоксина с помощью специфических моноклональных антител методом вестерн-блоттинга. Методом проточной цитофлуориметрии оценивали распределение клеток по фазам клеточного цикла. Активность глутатионредуктазы, глутатионпероксидазы и тиоредоксинредуктазы определяли спектрофотометрическим методом. **Результаты.** В клетках линии HBL-100 под действием росковитина отмечались остановка клеточного цикла в G₂/M фазах и развитие окислительного стресса. Наряду с этим регистрировалось снижение концентрации тиоредоксина, глутаредоксина и изменение функциональной активности глутатионзависимых ферментов. **Заключение.** Использование блокатора клеточного цикла росковитина позволило в клетках эпителия молочной железы создать модель окислительного стресса на фоне ингибирования пролиферации клеток. Нами установлено, что тиоредоксин и глутаредоксин вносят вклад в нарушение пролиферации клеток эпителия молочной железы. Нарушение прохождения клеток по фазам клеточного цикла определяется способностью белков к редокс-модуляции, в том числе при развитии окислительного стресса при различных патологиях.

Ключевые слова: тиоредоксин, пролиферация, окислительный стресс, редокс-регуляция, клетки эпителия молочной железы.

(Для цитирования): Шахристова Е.В., Степовая Е.А., Рудиков Е.В., Сушицкая О.С., Родионова Д.О., Новицкий В.В. Участие редокс-белков в блокировании пролиферации клеток эпителия молочной железы в условиях окислительного стресса. *Вестник РАМН.* 2018;73(5):289–293. doi: 10.15690/vramn1030

289

E.V. Shakhristova*, E.A. Stepovaya, E.V. Rudikov, O.S. Sushitskaya,
D.O. Radionova, V.V. Novitsky

Siberian state medical university, Tomsk, Russian Federation

The Role of Redox Proteins in Arresting Proliferation of Breast Epithelial Cells Under Oxidative Stress

Background: Redox status imbalance against the backdrop of oxidative stress development underlies the pathogenesis of a whole range of diseases. Many intracellular proteins contain free thiol groups and undergo redox regulation which is one of the key processes in controlling cell proliferation. Thioredoxin and glutaredoxin are involved in maintaining intracellular redox homeostasis and act as candidates in regulating proliferation. This provides prospects for future development of methods for diagnosis and targeted therapy of socially sensitive diseases accompanied by oxidative stress. **The aim of the study** is to reveal the role of redox proteins in molecular mechanisms of regulating HBL-100 breast epithelial cell proliferation under the effect of roscovitine, a cell cycle inhibitor. **Materials and methods:** Two research groups were formed. They included HBL-100 human breast epithelial cells incubated in the presence and absence of 20 mcM roscovitine for 18 hours. The intracellular thioredoxin levels were determined using Western blot analysis with specific monoclonal antibodies. Distribution of the cells among cell cycle phases were evaluated by flow cytometry. The activity of glutathione reductase, glutathione peroxidase, and thioredoxin reductase were measured by spectrophotometry. **Results:** Under the effect of roscovitine in the HBL-100 cells, cell cycle arrest in the G₂/M phases occurred and oxidative stress developed. In the meantime, the decrease in the thioredoxin and glutaredoxin concentrations was registered along with the change in the functional activity of glutathione-dependent enzymes. **Conclusions:** Application of roscovitine, a cell cycle inhibitor, allowed creating a model of oxidative stress in the breast epithelial cells against the backdrop of inhibited cell proliferation. We identified that thioredoxin and glutaredoxin contributed to impairment of cell cycle progression. It points at a possibility to regulate cell proliferation by modulating the functional features of cellular redox-dependent proteins in different pathologies accompanied by oxidative stress.

Key words: thioredoxin, proliferation, oxidative stress, redox-regulation, breast epithelial cells.

(For citation): Shakhristova EV, Stepovaya EA, Rudikov EV, Sushitskaya OS, Radionova DO, Novitsky VV. The Role of Redox Proteins in Arresting Proliferation of Breast Epithelial Cells Under Oxidative Stress. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2018;73(5):289–293. doi: 10.15690/vramn1030

Обоснование

Одним из перспективных направлений молекулярной медицины является редокс-протеомика. В настоящее время известен целый ряд патологий, в основе патогенеза которых лежит нарушение редокс-статуса клеток на фоне развития окислительного стресса [1–3]. Многие внутриклеточные белки, в том числе транскрипционные факторы, ферменты, транспортные системы, содержат свободные тиоловые группы и подвергаются редокс-регуляции, что является одним из важнейших процессов управления пролиферацией [2, 4, 5]. Редокс-молекулы — глутатион, тиоредоксин и глутаредоксин — необходимы для поддержания внутриклеточного гомеостаза. Они участвуют в снижении продукции активных форм кислорода, изменении активности факторов транскрипции и экспрессии ряда генов, кодирующих белки-регуляторы клеточного метаболизма [5–8]. Культуры клеток могут быть использованы в качестве модельной системы для проведения *in vitro* исследований молекулярных механизмов развития различных патологических процессов, поскольку их использование позволяет исключить многие неспецифические факторы, сопровождающие редокс-регуляцию *in vivo*. Применяемый нами блокатор клеточного цикла росковитин, с одной стороны, может способствовать снижению пролиферации клеток [9], а с другой — индуцировать окислительный стресс в клетках эпителия молочной железы, что делает созданную нами экспериментальную модель окислительного стресса актуальной для изучения роли редокс-молекул, в том числе тиоредоксина, в регуляции пролиферации клеток при развитии различных патологических процессов.

Цель исследования — выявить участие редоксзависимых протеинов в молекулярных механизмах регуляции пролиферации клеток эпителия молочной железы линии HBL-100 при действии блокатора клеточного цикла росковитина на фоне развития окислительного стресса.

Методы

Дизайн исследования

Исследование являлось экспериментальным нерандомизированным, проведено *in vitro* в культуре клеток линии HBL-100.

Критерии соответствия

В качестве материала для исследования использовали клетки эпителия молочной железы человека линии HBL-100, полученные из Российской коллекции клеточных культур Института цитологии РАН (Санкт-Петербург). Культура клеток использовалась для определения показателей исследования, если после обработки смесью растворов трипсина и версена доля жизнеспособных клеток составляла не менее 85% по результатам микроскопического теста с трипановым синим (Seriva, США).

Условия проведения

Клетки линии HBL-100 культивировали при 37°C и 5% CO₂ в полной питательной среде, в состав которой входили RPMI-1640 (ПанЭко, Россия) и эмбриональная телячья сыворотка (Invitrogen, США) в соотношении 9:1, 0,3 мг/мл L-глутамин (ПанЭко, Россия) и 100 мкг/мл гентамицин (ICN, США).

Продолжительность исследования

Клетки эпителия молочной железы культивировали до получения их необходимого количества для проведения экспериментального исследования в течение 3 недель. После этого клетки делили на 2 группы и инкубировали с добавлением росковитина или без него в течение 18 ч. По окончании периода инкубации клетки использовали для количественного определения исследуемых показателей.

Описание медицинского вмешательства

Росковитин (Sigma Aldrich, США) — блокатор клеточного цикла — вносили в лунку культурального планшета в конечной концентрации 20 мкМ [9], и клетки в его присутствии инкубировали в течение 18 ч при 37°C и 5% CO₂. К интактным клеткам линии HBL-100 добавляли в том же объеме, что и блокатор, культуральную среду и инкубировали в тех же условиях.

Исходы исследования

Основной исход исследования

После 18 ч инкубации клеток линии HBL-100 с росковитином, блокирующим АТФ-связывающий домен белков-регуляторов пролиферации циклинзависимых протеинкиназ 2, 5, 7 [10], проводили внутриклеточное определение следующих параметров: концентрации тиоредоксина, активности тиоредоксинредуктазы, глутатионредуктазы, глутатионпероксидазы и распределения клеток по фазам клеточного цикла.

Дополнительные исходы исследования не установлены.

Анализ в подгруппах

Были сформированы 2 группы исследования:

- 1-я — интактные клетки линии HBL-100, инкубированные в питательной среде без внесения дополнительных веществ (*n*=6);
- 2-я — клетки линии HBL-100, культивируемые в питательной среде с добавлением росковитина (*n*=6).

Методы регистрации исходов

Культивирование клеток линии HBL-100 осуществлялось адгезионным методом в полной питательной среде, как описано ранее, с использованием культуральных флаконов (Jet Biofil, Китай) со специфической обработанной высокоадгезивной полистероловой поверхностью.

Активность глутатионредуктазы (КФ 1.6.4.2) оценивали по НАДФН-зависимому восстановлению окисленного глутатиона (GSSG) [11]. Активность глутатионпероксидазы (КФ 1.11.1.9) определяли по способности фермента катализировать реакцию взаимодействия восстановленного глутатиона (GSH) с гидроперекисью третбутила [12]. Активность тиоредоксинредуктазы (КФ 1.8.1.9) определяли методом, основанным на способности фермента катализировать НАДФН-зависимое восстановление дисульфидных связей субстратов [13]. Методом вестерн-блоттинга с использованием соответствующих моноклональных антител определяли внутриклеточное содержание тиоредоксина (Thermo Scientific, США) согласно инструкции фирмы-производителя. Определение содержания исследуемого белка проводили относительно концентрации референсного протеина β-актина.

Для оценки распределения клеток линии HBL-100 по фазам клеточного цикла (G₀/G₁, G₂/M, S) использовали набор CycleTest PLUS DNA Reagent Kit (Becton Dickinson, США). Принцип метода основан на детекции с помощью проточной цитофлуориметрии интенсивности флу-

оресценции изолированных ядер клеток, ДНК которых связывалась с пропидия йодидом. Для подсчета данных и их анализа использовали пакет программ ModFit LT 3.2 (Verity Software House, США).

Этическая экспертиза

Протокол экспериментального исследования (регистрационный № 3555 от 23.12.2013) утвержден Локальным этическим комитетом ГБОУ ВПО «СибГМУ» Минздрава России.

Статистический анализ

Принципы расчета размера выборки

Размер выборки предварительно не рассчитывался.

Методы статистического анализа данных

Статистическую обработку результатов исследования осуществляли с применением пакета программ SPSS Statistics 11.0 и Microsoft Excel. Для проверки гипотезы и соответствия выборочных данных нормальному закону распределения использовали тест Шапиро–Уилка. Поскольку исследуемые параметры в группах не подчинялись нормальному закону распределения, результаты представляли в виде медианы (Me) и интерквартильных разбросов [Q₁; Q₃]. Достоверность различий выборок с небольшим объемом устанавливали с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни для попарно несвязанных выборок. Критическим уровнем значимости считали значение $p < 0,05$.

Результаты

Объекты (участники) исследования

В результате культивирования клеток линии HBL-100 было получено достаточное количество клеточного материала, чтобы сформировать обе группы исследования и провести инкубацию клеток в присутствии и отсутствии росковитина с последующей оценкой изучаемых параметров.

Основные результаты исследования

При инкубации клеток эпителия молочной железы в присутствии росковитина нами ранее были получены данные нарушения пролиферации: уменьшение количества клеток в G₀/G₁ фазах и увеличении в G₂/M, S фазах по сравнению с показателями в интактной культуре [14], что согласуется с существующими представлени-

ями о действии блокаторов клеточного цикла [9, 10]. В клетках линии HBL-100 при действии росковитина нами ранее были установлены повышение продукции активных форм кислорода и снижение величины отношения GSH/GSSG [14], что свидетельствует о развитии окислительного стресса. Для выявления молекулярных механизмов нарушения пролиферации клеток эпителия молочной железы при действии блокатора клеточного цикла росковитина на фоне развития окислительного стресса нами была проведена оценка состояния системы тиоредоксина. Установлено, что при инкубации клеток линии HBL-100 в присутствии росковитина содержание тиоредоксина снижалось по сравнению со значениями аналогичного показателя в интактной культуре (табл.). При этом изменение активности тиоредоксинредуктазы в клетках эпителия молочной железы, инкубированных в присутствии росковитина, не отмечалось (см. табл.). Индуцированное росковитином снижение величины отношения GSH/GSSG, а значит, и редокс-потенциала системы глутатиона в клетках эпителия молочной железы, способствовало увеличению активности глутатионредуктазы и снижению глутатионпероксидазы по сравнению со значениями аналогичных показателей в интактной культуре (см. табл.).

Дополнительные результаты исследования

Дополнительные исходы исследования не получены, анализ в подгруппах не проводился в связи с их отсутствием.

Нежелательные явления

Нежелательные явления не регистрировались.

Обсуждение

Резюме основного результата исследования

Созданная нами модель окислительного стресса в клетках эпителия молочной железы с ингибированием пролиферации при действии росковитина была использована в качестве инструмента, способного одновременно управлять клеточным циклом и влиять на редокс-статус клеток [14]. Снижение внутриклеточной концентрации редокс-белков приводило к нарушению редокс-гомеостаза клеток линии HBL-100, что повлекло изменение в дитиолдисульфидной структуре внутриклеточных белков, их пространственной конфигурации, необходимой для взаимодействия с молекулами-регуляторами проли-

Таблица. Результат инкубации клеток эпителия молочной железы в присутствии росковитина, Me [Q₁; Q₃]

Редокс-молекулы	Группы	
	Интактные HBL-100	HBL-100 + росковитин
Тиоредоксин, усл. ед.	1,78 [1,76; 1,79]	1,64* [1,62; 1,65]
Тиоредоксинредуктаза, нмоль НАДФН / мин × мг белка	5,35 [4,91; 5,49]	6,33 [5,69; 6,65]
Глутатионпероксидаза, нмоль НАДФН / мин × мг белка	220,11 [214,76; 223,31]	104,66* [91,89; 140,40]
Глутатионредуктаза, мкмоль НАДФН / мин × мг белка	54,64 [51,99; 56,29]	150,13* [146,02; 151,09]

Примечание. * — $p < 0,01$ по сравнению с интактными клетками HBL-100; # — $p < 0,05$ по сравнению с интактными клетками линии HBL-100.

ферации, и в конечном итоге снизило пролиферативную активность клеток.

Обсуждение основного результата исследования

Пролиферация клеток — сложно регулируемый процесс, требующий своевременной наработки и деградации ряда белковых молекул, основная роль среди которых принадлежит циклинам и циклинзависимым протеинкиназам. Воздействие активирующих или ингибирующих молекул способствует либо запуску пролиферации и прохождению точки рестрикции с последующим вступлением в синтетический период (S-фазу), либо остановке клеточного деления и пребыванию клетки в фазе покоя (G_0). Используемый нами росковитин приводил к остановке клеточного цикла в G_2/M фазах [14] вследствие схождения в химическом строении блокатора и молекул АТФ, что способствовало конкурентному вытеснению макроэргического соединения из АТФ-связывающих участков циклинзависимых протеинкиназ со снижением их каталитической активности [10].

Как было установлено нами в предыдущих исследованиях, росковитин способствовал индукции окислительного стресса в клетках эпителия молочной железы [14]. На фоне снижения редокс-потенциала системы глутатиона генерированные активные формы кислорода могут приводить к повреждению макромолекул, в том числе белков-регуляторов пролиферации. В защите внутриклеточных протеинов и поддержании редокс-гомеостаза важную роль играют редокс-белки — тиоредоксин и глутаредоксин [5, 8, 15]. Оба этих протеина необходимы для сохранения как дитиолдисульфидной структуры внутриклеточных белков, так и их пространственной конфигурации, необходимой для взаимодействия с молекулами-регуляторами пролиферации. Снижение концентрации тиоредоксина, как и установленное ранее уменьшение содержания глутаредоксина [14], в клетках линии HBL-100 при действии росковитина могло способствовать окислительной модификации различных белковых молекул [16], в том числе циклинов и циклинзависимых протеинкиназ, что приводило к снижению пролиферативной активности клеток. Для поддержания редокс-белков в их восстановленной форме необходимы GSH и глутатионзависимые ферменты — глутатионредуктаза и глутатионпероксидаза. GSH использовался глутатионпероксидазой, катализирующей восстановление пероксидов, образующихся при развитии окислительного стресса. Установленное нами снижение активности этого фермента в клетках эпителия молочной железы при действии росковитина было связано с недостатком восстановленной формы глутатиона, интенсивно используемой во внутриклеточных реакциях при окислительном стрессе. В клетках эпителия молочной железы на фоне индуцированного росковитином окислительного стресса увеличивалась активность глутатионредуктазы, восстанавливающей GSSG, что было связано со снижением редокс-статуса системы глутатиона. При этом GSH интенсивно расходовался в реакциях непосредственного восстановления окисленного глутаредоксина и опосредованной регенерации тиоредоксиндисульфида, катализируемой тиоредоксинредуктазой. Тиоредоксин играет важную роль в пролиферации, поскольку этот белок используется в качестве кофермента рибонуклеотидредуктазой, осуществляющей синтез дезоксирибонуклеотидов, необходимых для репликации молекул ДНК в S-фазу [5]. Снижение концентрации тиоредоксина и его регенерации в восстановленную форму в клетках линии HBL-100, инкубированных в присутствии росковитина,

приводит к снижению пролиферативной активности клеток. Таким образом, тиоредоксин и глутаредоксин играют важную роль в поддержании редокс-статуса клеток, способствуют сохранению пространственной структуры и функций молекул-регуляторов пролиферации в клетках линии HBL-100 при индуцированном росковитином окислительном стрессе.

Ограничения исследования

В исследование не включали клеточную культуру, в которой доля жизнеспособных клеток в трипановом тесте составляла менее 85%.

Заключение

Использование блокатора клеточного цикла росковитина позволило создать модель окислительного стресса в клетках эпителия молочной железы с ингибированием пролиферации клеток. Нами установлено, что тиоредоксин вносит вклад в нарушение пролиферации клеток эпителия молочной железы. Нарушение прогрессии фаз клеточного цикла определяется способностью белков к редокс-модуляции, в том числе при развитии окислительного стресса при различных патологиях. Полученные данные в области редокс-протеомики могут быть использованы для таргетной терапии заболеваний, сопровождающихся окислительным стрессом и нарушением редокс-статуса.

Источник финансирования

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (отделение гуманитарных и общественных наук) в рамках научного проекта № 17-36-01029.

Конфликт интересов

Представленный в статье материал является частью диссертационной работы Е.В. Шахристовой (предполагаемый срок защиты — 2018 г.). Авторы подтверждают отсутствие иных явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Участие авторов

Е.В. Шахристова — разработка концепции и дизайна, проверка критически важного интеллектуального содержания, проведение практической части исследования, анализ и интерпретация данных, написание рукописи статьи; Е.А. Степовая — разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных, написание рукописи статьи, окончательное утверждение для публикации рукописи; Е.В. Рудиков — проведение практической части исследования, анализ и интерпретация данных, написание рукописи статьи; О.С. Сушицкая, Д.О. Родионова — проведение практической части исследования; В.В. Новицкий — проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи. Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

ЛИТЕРАТУРА

1. Меньшикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З., и др. *Окислительный стресс: патологические состояния и заболевания*. — Новосибирск: АРТА; 2008. — 284 с. [Menshchikova EB, Zenkov NK, Lankin VZ, et al. *Okislitel'nyi stress: patologicheskie sostoyaniya i zabolevaniya*. Novosibirsk: ARTA; 2008. 284 p. (In Russ).]
2. Butterfield DA, Dalle-Donne I. Redox proteomics: from protein modifications to cellular dysfunction and disease. *Mass Spectrom Rev*. 2014;33(1):1–6. doi: 10.1002/mas.21404.
3. Klaunig JE, Wang Z. Oxidative stress in carcinogenesis. *Curr Opin Toxicol*. 2018;7:116–121. doi: 10.1016/j.cotox.2017.11.014.
4. Зенков Н.К., Кожин П.М., Чечушков А.В., и др. Лабиринты регуляции Nrf2 // *Биохимия*. — 2017. — Т.82. — №5 — С. 749–759. [Zenkov NK, Kozhin PM, Cheshushkov AV, et al. Mazes of Nrf2 regulation. *Biochemistry*. 2017;82(5):749–759. (In Russ).]
5. Harris IS, Treloar AE, Inoue S, et al. Glutathione and thioredoxin antioxidant pathways synergize to drive cancer initiation and progression. *Cancer Cell*. 2015;27(2):211–222. doi: 10.1016/j.ccell.2014.11.019.
6. Ray PD, Huang BW, Tsuji Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cell Signal*. 2012;24(5):981–990. doi: 10.1016/j.cellsig.2012.01.008.
7. Halliwell B. Free radicals and antioxidants: updating a personal view. *Nutr Rev*. 2012;70(5):257–265. doi: 10.1111/j.1753-4887.2012.00476.x.
8. Lu J, Holmgren A. The thioredoxin antioxidant system. *Free Radic Biol Med*. 2014;66:75–87. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.07.036.
9. Rajnai Z, Méhn D, Beéry E, et al. ATP-binding cassette B1 transports seliciclib (R-roscovitine), a cyclin-dependent kinase inhibitor. *Drug Metab Dispos*. 2010;38(11):2000–2006. doi: 10.1124/dmd.110.032805.
10. Cappellini A, Chiarini F, Ognibene A, et al. The cyclin-dependent kinase inhibitor roscovitine and the nucleoside analog sangivamycin induce apoptosis in caspase-3 deficient breast cancer cells independent of caspase mediated P-glycoprotein cleavage: implications for therapy of drug resistant breast cancers. *Cell Cycle*. 2009;8(9):1421–1425. doi: 10.4161/cc.8.9.8323.
11. Worthington DJ, Rosemeyer MA. Glutathione reductase from human erythrocytes. Catalytic properties and aggregation. *Eur J Biochem*. 1976;67(1):231–238. doi: 10.1111/j.1432-1033.1976.tb10654.x.
12. *Медицинские лабораторные технологии: руководство по клинической лабораторной диагностике*: в 2 т. / В.В. Алексеев и др.; под ред. А.И. Карпищенко. 3-е изд., перераб. и доп. — Т. 2. — М.: ГЭОТАР-Медиа; 2013. 792 с. [Alekseev V.V. *Meditsinskie laboratornye tekhnologii: rukovodstvo po klinicheskoi laboratornoi diagnostike*. Ed by A.I. Karpishchenko. 3rd ed., revised and updated. Moscow: GEOTAR-Media; 2013. 792 pp. (In Russ).]
13. Tamura T, Stadtman TC. A new selenoprotein from human lung adenocarcinoma cells: purification, properties, and thioredoxin reductase activity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93(3):1006–1011. doi: 10.1073/pnas.93.3.1006.
14. Шахристова Е.В., Степовая Е.А., Носарева О.Л., и др. Глутаредоксин и глутатион как молекулы-регуляторы пролиферации клеток эпителия молочной железы при индуцированном росковитином окислительном стрессе // *Сибирский научный медицинский журнал*. — 2017. — Т.37. — №5 — С. 5–10. [Shakhristova EV, Stepovaya EA, Nosareva OL, et al. Glutaredoxin and glutathione as the molecules regulating breast epithelial cell proliferation under roscovitine-induced oxidative stress. *Siberian scientific medical journal*. 2017;37(5):5–10. (In Russ).]
15. Шахристова Е.В., Степовая Е.А., Носарева О.Л., и др. Глутатион и глутаредоксин в росковитин-опосредованном ингибировании пролиферации клеток аденокарциномы молочной железы // *Вестник Российской академии медицинских наук*. — 2017. — Т.72. — №4 — С. 261–267. [Shakhristova EV, Stepovaya EA, Nosareva OL, et al. Glutathione and glutaredoxin in roscovitine-mediated inhibition of breast cancer cell proliferation. *Annals Russian Academy Medical Sciences*. 2017;72(4):261–267. (In Russ).] doi: 10.15690/vramn849.
16. Патент РФ на изобретение № 2017118700А/ 23.04.2018. Бюл. № 12. Шахристова Е.В., Степовая Е.А., Носарева О.Л., и др. Способ оценки степени окислительного стресса по содержанию карбонилированного тиоредоксина в клетках. [Patent RUS № 2017118700А/ 23.04.2018. Byul. № 12. Shakhristova EV, Stepovaya EA, Nosareva OL, et al. Sposob otsenki stepeni okislitel'nogo stressa po sodержaniyu karbonilirovanogo tioredoksina v kletkakh. (In Russ).] Доступно по: <https://patents.google.com/patent/RU2652336C1/ru>. Ссылка активна на 12.02.2018.

293

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

***Шахристова Евгения Викторовна**, к.м.н., доцент [Evgeniya V. Shakhristova, MD, PhD];
адрес: 634050, Томск, Московский тракт, д. 2 [address: 2, Moscovsky tract, 634050 Tomsk, Russia],
тел.: +7 (3822) 90-11-01 доб. 1853, e-mail: shaxristova@yandex.ru, SPIN-код: 8125-6414,
ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2938-1137>

Степовая Елена Алексеевна, д.м.н., профессор [Elena A. Stepovaya, MD, PhD, Professor];
e-mail: muir@mail.ru, SPIN-код: 5562-4522, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9339-6304>

Рудиков Евгений Валерьевич [Evgeniy V. Rudikov]; e-mail: korvin_w@mail.ru, SPIN-код: 5559-4313,
ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3283-3616>

Сушицкая Ольга Сергеевна [Olga S. Sushitskaya]; e-mail: sushitsckaya.olya@yandex.ru, SPIN-код: 2936-0198,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0441-0325>

Родионова Дарья Олеговна [Daria O. Rodionova]; e-mail: rodionova.darya@yandex.ru, SPIN-код: 5669-1967,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7568-6444>

Новицкий Вячеслав Викторович, д.м.н., профессор, академик РАН [Vyacheslav V. Novitsky, MD, PhD, Professor];
e-mail: patfizssmu@yandex.ru, SPIN-код: 7160-6881, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9577-8370>