

Л.А. Таширева, Е.Г. Старикова, В.В. Новицкий, Н.В. Рязанцева

Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Российская Федерация

Внутриклеточные мишени проапоптотического влияния газовых трансмиттеров

В настоящем исследовании были определены основные молекулярные мишени проапоптотического действия оксида азота, сульфида водорода и монооксида углерода в клетках линии Jurkat. Показано, что действие всех трех газов сопровождается падением митохондриального трансмембранного потенциала. Причиной данного события является дисбаланс в системе белков семейства Bcl-2. Выход проапоптотических факторов после увеличения проницаемости митохондриальной мембраны при действии на клетки монооксида азота и углерода может нивелироваться за счет ингибирующего влияния белка xIAP на активность каспазы 9 и 3.

Ключевые слова: апоптоз, оксид азота, сульфид водорода, монооксид углерода, xIAP, Aven.
(Вестник РАМН. 2012; 10:77–81).

Введение

Апоптоз, или запрограммированная клеточная гибель, является естественным процессом, представляющим собой основной компонент эмбрио-, морфогенеза и роста тканей [1]. Изменения, происходящие на этапе инициации апоптотического процесса, сопровождаются снижением ферментативной активности членов семейства каспаз. Одной из причин ингибирования каспаз может стать повышенная экспрессия генов, кодирующих белки-ингибиторы каспазной активности (xIAP и Aven) [2, 3]. Снижение активности каспаз 3 и 9 является причиной опухолевого перерождения в случае миелоидной и лимфоидной лейкемии, рака легких и молочной железы [4].

В последнее время все больший интерес вызывает трансдукция сигналов апоптоза с помощью газотрансммиттеров оксида азота (NO), монооксида углерода (CO) и сульфида водорода (H₂S). Рядом исследователей было показано, что оксид азота обладает избирательным, сенсibiliзирующим к апоптозу, действием в отношении опухолевых клеток. В более ранних исследованиях нами было продемонстрировано, что H₂S наряду с NO вызывает апоптоз клеток линии Jurkat [5].

Цель исследования: определить молекулярные мишени опосредованного газами апоптоза (на уровне белков семейства Bcl-2, протеинов-ингибиторов каспаз, активности каспаз 3 и 9, проницаемости митохондриальных мембран). Полученные данные могут быть положены

в основу патогенетически обоснованной терапии, направленной на создание новых подходов к лечению злокачественных новообразований.

Материалы и методы

Материал для исследования

Клетки линии Jurkat (Т-лимфобластная лейкемия), полученные из российской коллекции клеточных культур (Санкт-Петербург), инкубировали в полной питательной среде, содержащей 90% RPMI-1640 (Вектор-Бест, Россия), 10% телячьей эмбриональной сыворотки (Invitrogen, США), 0,3 мг/мл L-глутамин (Вектор-Бест, Россия) и 100 мкг/мл гентамицина (INS, США), при 37 °С в атмосфере 5% CO₂. Изменение содержания внутриклеточных газовых мессенджеров достигали посредством добавления в культуральную среду соответствующих доноров — нитропруссид натрия (SNP), гидросульфида натрия (NaHS) и CORM-2 (Ru(CO)₃Cl₂-димер).

Методы исследования

Число апоптотических клеток и клеток со сниженным митохондриальным трансмембранным потенциалом определяли посредством проточной цитофлуориметрии с использованием наборов «ANNEXIN V FITC» (Abcam, США) и «MitoScreen» (BD Pharmigen, США), соответственно. Результаты выражали в процентах относительно общего числа клеток.

L.A. Tashireva, E.G. Starikova, V.V. Novitskii, N.V. Ryazantseva

Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

Intracellular Targets of Proapoptotic Influence of Gaseous Transmitters

Main molecular targets of nitric oxide, hydrogen sulfide and carbon monoxide proapoptotic action in Jurkat cells were determined in this study. Decrease of mitochondrial transmembrane potential was shown during all three gases action. Reason of this event is the Bcl-2 family members disbalance. Proapoptotic proteins release after mitochondrion membranes permeabilisation could be abolished by protein xIAP inhibition of caspase -9 and -3 activity during NO and CO application.

Key words: apoptosis, nitric oxide, hydrogen sulfide, carbon monoxide, xIAP, Aven.

(Vestnik Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk – Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2012. 10: 77–81).

Таблица 1. Изменение числа апоптотически измененных клеток и клеток со сниженным митохондриальным трансмембранным потенциалом, а также активности каспазы 3 и 9 в условиях повышения внутриклеточной концентрации газовых трансммиттеров, *Me(Q1-Q3)*

Условия культивирования	Число клеток с апоптотическими признаками, %	Деполаризованные клетки, %	Активность каспазы 3, усл.ед.	Активность каспазы 9, усл.ед.
Интактные клетки линии Jurkat	3,50 [2,70–4,20]	1,10 [0,70–1,20]	1,00 [0,99–1,01]	1,00 [0,99–1,01]
Клетки линии Jurkat после воздействия 100 мМ SNP	16,95 [14,15–21,80] <i>p</i> < 0,05	74,50 [67,10–79,20] <i>p</i> < 0,05	2,17 [2,04–2,19] <i>p</i> < 0,05	3,09 [3,06–3,11] <i>p</i> < 0,05
Клетки линии Jurkat после воздействия 10 мМ NaHS	9,70 [8,83–14,90] <i>p</i> < 0,05	8,40 [7,80–20,60] <i>p</i> < 0,05	1,64 [1,59–1,68] <i>p</i> < 0,05	2,71 [2,69–2,74] <i>p</i> < 0,05
Клетки линии Jurkat после воздействия 50 мкМ CORM-2	9,60 [8,90–10,10] <i>p</i> < 0,05	16,40 [15,90–18,50] <i>p</i> < 0,05	1,26 [1,20–1,31] <i>p</i> < 0,05	1,67 [1,61–1,70] <i>p</i> < 0,05
Клетки линии Jurkat после воздействия 100 мкМ NOC-5	8,70 [8,50–8,80] <i>p</i> < 0,05	80,70 [76,20–84,30] <i>p</i> < 0,05	1,62 [1,57–1,66] <i>p</i> < 0,05	0,96 [0,91–1,01] <i>p</i> > 0,05

Примечание. (Здесь и в табл. 2): *p* — достоверность различий по сравнению с интактной культурой линии Jurkat.

Тотальную РНК выделяли из клеток с использованием набора реагентов «QIAmp RNeasy mini Kit» (QIAGEN, Германия). Процедуру обратной транскрипции проводили с применением случайных гексапраймеров и MMuLV-обратной транскриптазы (Promega, США). Уровень экспрессии генов *bcl-2*, *bcl-xl*, *bad*, *xiap* и *aven* определяли при помощи полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием специфических праймеров. Нормализацию проводили с применением референсного гена *b-actine*.

Содержание белков Bcl-2, Bcl-xl, Bad, XIAP и Aven определяли методом вестерн-блоттинга. Для этого цельноклеточные лизаты наносили на ДСН-ПААГ (SDS-PAGE)-гель, содержащий 10% бис-акриламид и 0,1% ДСН (Helicon, США), с последующим разделением по молекулярной массе под действием электрического поля. Затем белки переносили на нитроцеллюлозную мембрану (Bio-Rad, США), блокировали 1% желатином и обрабатывали специфическими антителами (Biosource, США). Детекцию выполняли хемилюминисцентным методом с использованием набора «NOVEX ECL Chemiluminescent Substrate Reagent kit» (Invitrogen, США).

Статистическая обработка данных

Распределение полученной выборки проверяли на нормальность с помощью критерия Шапиро–Уилка. Достоверность различий показателей оценивали с применением критериев Манна–Уитни и Краскела–Уоллиса. Различия считали достоверными при *p* < 0,05.

Результаты и обсуждение

Было показано, что воздействие в течение 15 мин SNP в концентрации 100 мМ, NaHS в концентрации 10 мМ, а также воздействия в течение 24 ч 100 мкМ NOC-5 и 50 мкМ CORM-2 на клетки линии Jurkat вызывает достоверное повышение числа клеток, вступивших в апоптоз. Указанные концентрации и продолжительность воздействия не вызвали статистически значимого повышения числа клеток линии Jurkat с некротическими изменениями.

Далее была сделана попытка установить молекулярные механизмы, лежащие в основе выявленного влияния газовых трансммиттеров на программи-

рованную клеточную гибель. Была проведена оценка состояния митохондриального пути инициации апоптоза в интактных клетках линии Jurkat. Полученные на культуре Т-лимфобластных лейкоцитов результаты свидетельствуют о том, что повышение внутриклеточной концентрации оксида азота приводит к увеличению числа клеток со сниженным трансмембранным митохондриальным потенциалом как при воздействии 100 мМ SNP, так и при влиянии 100 мкМ NOC-5, т.е. является специфическим и не является дозозависимым. Аналогичным образом действовали сульфид водорода и монооксид углерода (табл. 1). Следует отметить, что повышение внутриклеточной концентрации сульфида водорода приводит к увеличению числа клеток со сниженным Δψ в наименьшей степени по сравнению с другими газами, хотя использованная в нашем эксперименте концентрация превышала физиологическую. Имеются данные о том, что H₂S способен открывать K_{ATP}-каналы митохондрий, что приводит к серии внутриклеточных событий и сохранению митохондриальной целостности [6]. Возможно, именно это свойство сульфида водорода лежит в основе стабилизации митохондрий и предотвращения коллапса митохондриального дыхания, происходящего при воздействии оксида азота и монооксида углерода.

Известно, что одной из причин возникновения порв в мембранах митохондрий является дисбаланс белков-регуляторов апоптоза семейства Bcl-2 [7]. Антиапоптотическая активность белка Bcl-2 основана на его способности непосредственно связывать цитохром *c* и вытеснять его из апоптосомы, предотвращая тем самым активацию каспаз [7]. При 15-минутной инкубации Т-лимфобластных лейкоцитов со 100 мМ SNP отмечалось снижение уровня экспрессии гена *bcl-2* (табл. 2). Подытоживая данные литературы и собственные результаты, можно полагать, что воздействие нитропруссид натрия в проапоптотической концентрации равной 100 мМ, вызывает S-нитрозилирование транскрипционного фактора CREBBP, что приводит к снижению транскрипции гена *bcl-2*. Однако выполненный нами вестерн-блот анализ показал, что содержание белка Bcl-2 в клетках линии Jurkat после воздействия на них 100 мМ SNP достоверно увеличивается (рис. 1). Возможно, данный эффект вызван включающимся компенсаторным механизмом, посредством которого в ответ на угнетение транскрипции гена *bcl-2* происходит

Таблица 2. Экспрессия генов *aven*, *xiap*, *bcl-2*, *bcl-xl* и *bad* в условиях повышения внутриклеточной концентрации газовых транмиттеров, *Me(Q1-Q3)*

Условия культивирования	Экспрессия гена <i>aven</i> , усл.ед.	Экспрессия гена <i>xiap</i> , усл.ед.	Экспрессия гена <i>bcl-2</i> , усл.ед.	Экспрессия гена <i>bcl-xl</i> , усл.ед.	Экспрессия гена <i>bad</i> , усл.ед.
Интактные клетки линии Jurkat	1,99 [1,63–2,00]	4,97 [4,88–5,40]	5,84 [5,35–6,12]	9,92 [9,76–13,33]	3,10 [2,47–3,19]
Клетки линии Jurkat после воздействия 100 мМ SNP	0,31 [0,30–0,32] <i>p</i> < 0,05	0,24 [0,21–0,27] <i>p</i> < 0,05	3,78 [3,76–3,8] <i>p</i> < 0,05	1,83 [1,74–1,92] <i>p</i> < 0,05	3,20 [3,00–3,40] <i>p</i> > 0,05
Клетки линии Jurkat после воздействия 10 мМ NaHS	0,26 [0,22–0,28] <i>p</i> < 0,05	0,20 [0,19–0,21] <i>p</i> < 0,05	2,68 [1,94–3,17] <i>p</i> < 0,05	1,57 [1,39–1,76] <i>p</i> < 0,05	3,75 [3,50–3,93] <i>p</i> > 0,05
Клетки линии Jurkat после воздействия 50 мкМ CORM-2	2,71 [1,85–3,57] <i>p</i> > 0,05	1,14 [0,82–1,58] <i>p</i> < 0,05	2,90 [1,51–4,78] <i>p</i> < 0,05	3,36 [2,92–3,99] <i>p</i> < 0,05	1,24 [0,75–1,64] <i>p</i> < 0,05
Клетки линии Jurkat после воздействия 100 мкМ NOC-5	2,28 [1,68–2,86] <i>p</i> > 0,05	0,28 [0,23–0,38] <i>p</i> < 0,05	0,79 [0,72–0,98] <i>p</i> < 0,05	1,13 [0,98–1,26] <i>p</i> < 0,05	39,80 [20,37–49,19] <i>p</i> < 0,05

замедление деградации соответствующего протеина. В литературных источниках имеются доказательства того, что S-нитрозилирование самого белка Bcl-2 предотвращает его деградацию через убиквитин-протеасомальный путь [8].

Содержание мРНК гена *bcl-2* при воздействии 100 мкМ NOC-5 на клетки линии Jurkat также достоверно снижалось по сравнению с интактной культурой. Снижение уровня транскрипта гена *bcl-2* не сопровождалось достоверным изменением содержания соответствующего продукта, определенного методом вестерн-блоттинга. Данный эффект NOC-5 может быть объяснен описанным выше свойством оксида азота стабилизировать белок Bcl-2, предотвращая его деградацию и благодаря этому поддерживать его уровень в клетке даже в условиях подавления транскрипции гена.

При 15-минутной инкубации Т-лимфобластных лейкоцитов с 10 мМ NaHS отмечалось снижение уровня экспрессии мРНК гена *bcl-2* относительно значения, полученного для интактной культуры. Известно, что H₂S в физиологических концентрациях способен приводить к фосфорилированию и ингибированию белка Bad и повышению экспрессии *bcl-2* и *bcl-xl*, однако другие исследователи показывают, что H₂S-индуцированный апоптоз сопровождается повышением экспрессии *p53*, *ku 70* и *ku 80*, *bax*, гена цитохрома с, но не *bcl-2* [9]. В нашем исследовании

в бласттрансформированных клетках сульфид водорода являлся негативным регулятором экспрессии гена *bcl-2*, что еще раз подтверждает его дуалистичный эффект, зависящий от дозы и типа клеток. В отличие от оксида азота и сульфида водорода повышение внутриклеточной концентрации монооксида углерода не вызывало изменения экспрессии гена *bcl-2*. Известно, что синтезированная мРНК может подвергаться процессам посттранскрипционной модификации и потому не всегда отражать истинное соотношение белков в клетке. Для того, чтобы определить внутриклеточный уровень изучаемых белков, был проведен вестерн-блот анализ, который показал, что уровень белка Bcl-2 в клетках линии Jurkat после воздействия на них NaHS увеличивается, а CORM-2 — снижается. Следовательно, зафиксированное нами снижение экспрессии гена *bcl-2* при воздействии сульфида водорода сопровождается повышением содержания соответствующего белка, что в дальнейшем реализуется во вступлении клетки в апоптоз. Полученные результаты могут быть объяснены уже существующими данными о том, что сульфид водорода способен S-сульфидировать белки [10], что, возможно, защищает их от деградации. Повышение внутриклеточной концентрации монооксида углерода не вызывало изменения экспрессии гена *bcl-2*, однако содержание соответствующего белка было ниже такового в интактной культуре. Поскольку каких-

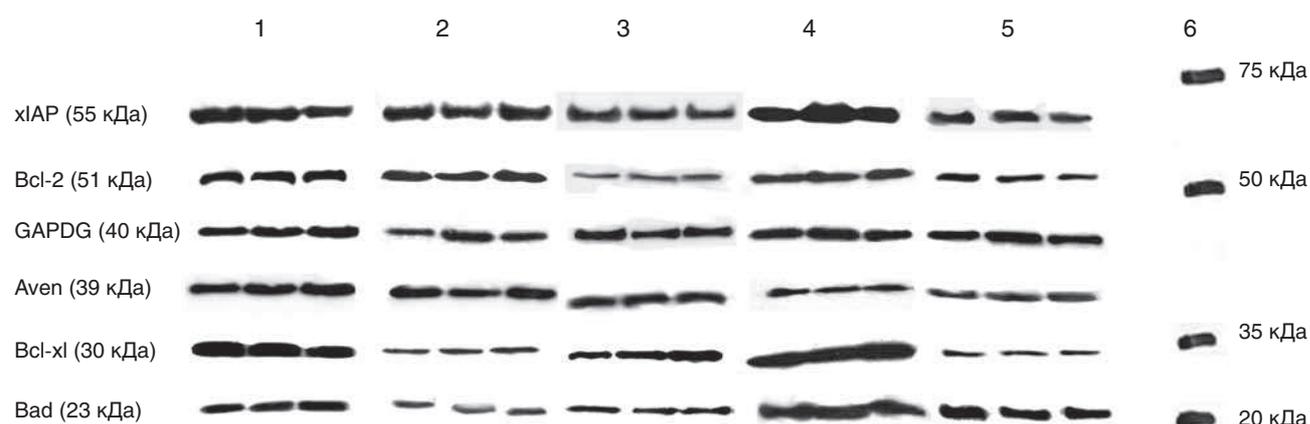


Рис. Содержание белков Aven, xiAP, Bcl-2, Bcl-xL и Bad при культивировании: 1 — интактных клеток линии Jurkat; 2 — клеток линии Jurkat со 100 мМ SNP; 3 — клеток линии Jurkat со 100 мкМ NOC-5; 4 — клеток линии Jurkat с 10 мМ NaHS; 5 — клеток линии Jurkat с 50 мкМ CORM-2; 6 — отрицательный контроль.

либо протекторных свойств, подобных свойствам оксида азота, для монооксида углерода не описано, его эффект может быть объяснен усилением деградации антиапоптотического белка Bcl-2 либо нарушением процессов трансляции.

Известно, что другой антиапоптотический белок Bcl-xL способен блокировать образование апоптосомы, связываясь с Araf-1 и каспазой 9 и образуя тройной комплекс [11]. Воздействие NOC-5, SNP, NaHS и CORM-2 на интактные клетки линии Jurkat сопровождалось достоверным понижением экспрессии мРНК гена *bcl-xl* по сравнению с контролем. Измерение содержания соответствующего белка в клетках линии Jurkat методом вестерн-блоттинга показало, что воздействие оксида азота в обеих концентрациях и сульфида водорода не влияет на уровень белка Bcl-xL. Таким образом, снижение экспрессии гена *bcl-xl* не приводит к снижению содержания соответствующего протеина, что, возможно, обусловлено высвобождением Bcl-xL из связи с другими протеинами либо его переходом в активную форму. Монооксид углерода снижает содержание изучаемого белка в клетках линии Jurkat, что является следствием подавления экспрессии соответствующего гена.

Важным участником в регуляции митохондриального пути апоптоза является белок Bad. Известно, что указанный протеин способен гетеродимеризоваться с Bcl-x1 или Bcl-2, нейтрализуя их протективный эффект и промотируя смерть клетки [12]. Нами было показано, что высокая концентрация оксида азота и сульфида водорода не служит регулятором экспрессии гена *bad* в клетках линии Jurkat. NO в низкой концентрации играет роль позитивного регулятора экспрессии гена *bad*, а монооксид углерода — негативного. Изучение внутриклеточного содержания белка Bad показало, что микромолярная концентрация оксида азота, сульфида водорода и монооксида углерода повышает содержание белка Bad в клетках линии Jurkat. Миллимолярная доза оксида азота на изучаемый параметр не влияет. Следовательно, оксид азота воздействует на содержание изучаемого белка дозозависимо: в микромолярной концентрации вызывает повышение содержания белка вследствие повышенной экспрессии соответствующего гена, тогда как в миллимолярной на экспрессию как гена, так и белка не влияет.

Контрольной точкой в определении судьбы клетки является также действие белков, подавляющих дистальные участки апоптоза. Известны белки, ингибирующие каспазу 8 (FLICE-протеазу), семейство белков IAP (апоптоз-ингибирующие белки), а также открытый сравнительно недавно белок Aven [2, 3]. Добавление донора оксида азота (и SNP, и NOC-5) к клеткам линии Jurkat приводило к статистически значимому снижению уровня мРНК гена *xiap*, однако содержание белка было достоверно выше, чем в интактной культуре. Полученные нами результаты показывают, что при воздействии проапоптотических доз указанных доноров содержание белка XIAP повышалось. Идентичные эффекты по изменению экспрессии гена *xiap* были обнаружены при культивировании клеток линии Jurkat с донором сульфида водорода. При воздействии 10 мМ NaHS экспрессия гена *xiap* снижалась, однако содержание белка XIAP при этом не изменялось. По всей видимости, сульфид водорода (в отличие от оксида азота) не обладает стабилизирующим действием на мРНК, и потому содержание белка XIAP не изменяется. Культивирование клеток линии Jurkat в среде, содержащей проапоптотическую дозу донора монооксида углерода, приводило к снижению экспрессии

гена *xiap* относительно интактной культуры, содержание исследуемого белка при этом снижалось. Полученные данные указывают на то, что одним из механизмов, с помощью которого монооксид углерода вызывает апоптоз опухолевых клеток линии Jurkat, является подавление экспрессии гена кодирующего белок XIAP. Содержание указанного белка при этом также снижалось.

Также было изучено влияние внутриклеточных газовых трансмиттеров на экспрессию гена *aven* и содержание соответствующего протеина в клетках линии Jurkat. Было показано, что SNP способен регулировать только транскрипцию гена *aven*, не оказывая влияния на трансляцию. Другой донор оксида азота — NOC-5 — участвует в регуляции экспрессии белка Aven, при этом не оказывая влияния на экспрессию соответствующего гена. Воздействие сульфида водорода подавляет экспрессию гена *aven*, однако изменения содержания соответствующего белка не происходит. Возможно, сульфид водорода подавляет экспрессию гена благодаря способности S-сульфгидрировать цистеиновые остатки аминокислот, в т.ч. и в транскрипционных факторах. В ответ на подавление экспрессии включаются компенсаторные механизмы, такие как защита белка от деградации, что позволяет поддерживать уровень белка в клетке. Полученные в нашем исследовании данные свидетельствуют о том, что повышение внутриклеточной концентрации монооксида углерода не приводит к изменению экспрессии гена *aven*, на содержание соответствующего протеина монооксид углерода также не влияет. По всей видимости, *aven* не является мишенью действия монооксида углерода.

Для того, чтобы комплексно оценить влияние доноров оксида азота, сульфида водорода и монооксида углерода на белки-ингибиторы каспаз XIAP и Aven, была выполнена спектрофотометрическая оценка активности самих каспаз, в частности каспазы 3 и 9. Зафиксированное повышение активности каспазы 3 является причиной увеличения числа апоптотически измененных клеток при действии всех трех газов. Каспаза 3 может активироваться за счет ферментативного расщепления инициаторной каспазой 9, последняя активируется митохондриальными апоптоз-индуцирующими факторами. Нами было показано, что проницаемость митохондриальных мембран увеличивается в 68 раз при действии SNP, в 73 — при действии NOC-5, в 15 — при действии донора монооксида углерода и в 8 — при повышении внутриклеточной концентрации сульфида водорода. При этом SNP, NaHS и CORM-2 повышали активность каспазы 9 в одинаковой степени, NOC-5 не влиял на активность данного фермента. Зафиксированное многократное повышение проницаемости митохондриальной мембраны в случае воздействия NO и, как следствие, выход апоптоз-индуцирующих факторов должно приводить к более выраженной активации каспазы 9 и 3, чего обнаружено не было. Возможно, отсутствие адекватного эффекта NO-опосредованного выхода апоптоз-индуцирующих факторов из митохондрий на активность каспазы 3 и 9 вызвано ингибированием каспаз белком XIAP, содержание которого повышается при действии доноров оксида азота. Продемонстрировано, что H₂S и CO обуславливают появление одинакового числа апоптотически измененных клеток. Активность каспазы 3 и 9 при инкубации клеток с донорами данных газов также не различается. При этом число клеток со сниженным Δψ в случае действия CO в 2 раза превышает таковое при действии на клетки H₂S.

Заключение

Мишенями воздействия всех трех включенных в исследование газов является белок Bcl-2. Повышение содержания данного белка при инкубировании клеток с донором NO и H₂S не препятствует падению митохондриального трансмембранного потенциала при действии на клетки указанных газов. В случае H₂S повышение содержания Bcl-2 может нивелироваться за счет увеличения количества проапоптотического белка Bad. Изменение соотношения белков семейства Bcl-2 под действием монооксида углерода может являться причиной зафиксированного нами повышения проницаемости митохондриальной мембраны. Число клеток со сниженным Δψ соответствует числу апоптотически измененных клеток только в случае воздействия H₂S. Увеличение проницаемости митохондриальной мембраны при действии NO и CO может нивелироваться за счет ингибирующего влияния белка XIAP на активность каспазы 9 и 3. Нами было показано, что изменение соотношения белков-регуляторов апоптоза при действии газов не связано с экспрессией соответствующих генов и, следовательно,

может быть использовано в клетках с трансформированным генотипом. Учитывая результаты проведенных исследований, можно сделать вывод, что в комплексной терапии злокачественных новообразований могут быть использованы газы CO и H₂S. Монооксид углерода проявляет проапоптотический эффект за счет дисбаланса белков семейства Bcl-2. При этом применение доноров сероводорода ограничено клонами, характеризующимися повышенным содержанием Bcl-2. Оксид азота приводит к повышению уровня белков-ингибиторов каспаз, а также наиболее сильно из всех изучаемых газов нарушает целостность митохондриальных мембран, что исключает возможность его применения в противоопухолевой терапии.

Работа выполнена в рамках Федеральных целевых программ «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007–2012 гг.» (ГК № 16.512.11.2087) и «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009–2013 гг.» (ГК № П1311 и ГК № 14.740.11.0932).

REFERENCES

1. Martinou J.C., Youle R.J. Mitochondria in apoptosis: Bcl-2 family members and mitochondrial dynamics. *Dev. Cell.* 2011; 21 (1): 92–101.
2. Chau B.N., Cheng E.H., Kerr D.A., Hardwick J.M. Aven, a novel inhibitor of caspase activation, binds Bcl-xL and Apaf-1. *Mol. Cell.* 2000; 6 (1): 31–40.
3. Smolewski P., Robak T. Inhibitors of apoptosis proteins (IAPs) as potential molecular targets for therapy of hematological malignancies. *Curr. Mol. Med.* 2011; 11 (8): 633–649.
4. Olsson M., Zhivotovsky B. Caspases and cancer. *Cell Death Differ.* 2011; 18 (9): 41–49.
5. Starikova E.G., Ryazantseva N.V., Novitskii V.V., Tashireva L.A., Starikov Yu.V., Stepovaya E.A., Osikhov I.A., Vasil'eva O.A., Yakushina V.D. Rol' vnutrikletochnykh gazovykh transmitterov sul'fida vodoroda i oksida azota v regulyatsii apoptoza normal'nykh i blasttransformirovannykh kletok. *Byull. sibirskoi meditsiny.* 2011; 6: 40–44.
6. Skovgaard N., Gouliaev A., Aalling M., Simonsen U. The role of endogenous H₂S in cardiovascular physiology. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 2011; 12 (9): 1385–1393.
7. Garcia-Saez A.J., Fuertes G., Suckale J., Salgado J. Permeabilization of the outer mitochondrial membrane by Bcl-2 proteins. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2010; 677: 91–105.
8. Azad N., Vallyathan V., Wang L., Tantishaiyakul V., Stehlik C., Leonard S.S., Rojanasakul Y. S-nitrosylation of Bcl-2 inhibits its ubiquitin-proteasomal degradation. *J. Biol. Chem.* 2006; 281 (45): 34124–34134.
9. Yang G.D., Wang R. H₂S and cellular proliferation and apoptosis. *Sheng Li Xue Bao.* 2007; 59 (2): 133–140.
10. Mustafa A.K., Gadalla M.M., Sen N., Kim S., Mu W., Gazi S.K., Barrow R.K., Yang G., Wang R., Snyder S.H. H₂S signals through protein S-sulfhydration. *Sci. Signal.* 2009; 2 (96): 72.
11. Bertini I., Chevance S., Del Conte R., Lalli D., Turano P. The anti-apoptotic Bcl-x(L) protein, a new piece in the puzzle of cytochrome c interactome. *PLoS One.* 2011; 6 (4): 18329–18336.
12. Elkholi R., Floros K.V., Chipuk J.E. The role of BH3-only proteins in tumor cell development, signaling, and treatment. *Genes Cancer.* 2011; 2 (5): 523–537.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Таширева Любовь Александровна, аспирант кафедры патофизиологии ГБОУ ВПО СибГМУ МЗ РФ

Адрес: 634050, Томск, Московский тракт, д. 2

Тел.: (3822) 66-30-50

E-mail: lkleptsova@mail.ru

Старикова Елена Григорьевна, кандидат медицинских наук, докторант кафедры патофизиологии ГБОУ ВПО СибГМУ МЗ РФ

Адрес: 634050, Томск, Московский тракт, д. 2

Тел.: (3822) 24-37-81

E-mail: to-elen@yandex.ru

Новицкий Вячеслав Викторович, академик РАМН, профессор, заведующий кафедрой патофизиологии ГБОУ ВПО СибГМУ МЗ РФ

Адрес: 634050, Томск, Московский тракт, д. 2

Тел.: (3822) 53-04-23

E-mail: office@ssmu.ru

Рязанцева Наталья Владимировна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой фундаментальных основ клинической медицины ГБОУ ВПО СибГМУ МЗ РФ

Адрес: 634050, Томск, Московский тракт, д. 2

Тел.: (3822) 52-77-47

E-mail: strateg@ssmu.ru