

УДК 612.112.94:[612.111.14+614.875]

## УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ МОЛЕКУЛ РЕЦЕПТОРНОГО КОМПЛЕКСА CD95 И CD8 ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ МОНООКСИДА УГЛЕРОДА И УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО СВЕТА

© 2012 г. \*В. Г. Артюхов, О. И. Тюнина, Е. В. Дорохов

\*Воронежский государственный университет,  
Воронежская государственная медицинская академия им. Н.Н. Бурденко, г. Воронеж

С помощью методов иммуноферментного анализа и проточной цитофлуориметрии изучено влияние монооксида углерода и ультрафиолетового (УФ)-света на уровень экспрессии молекул рецепторного комплекса (CD95- и CD8-маркеров) на поверхности мембран лимфоцитов крови человека. Установлено, что монооксид углерода при длительной экспозиции (60 ÷ 90 мин) вызывает уменьшение числа CD95-рецепторов на поверхности иммунокомпетентных клеток, при этом через 24 часа инкубирования лимфоцитов отмечается усиление данного эффекта. Показано, что УФ-излучение в дозах 453 и 755 Дж/м<sup>2</sup> оказывает проапоптотическое действие по отношению к уровню экспрессии CD95-рецепторов анализируемых клеток. После суточного термостатирования модифицированных лимфоцитов выявлена различная чувствительность CD8-молекул к воздействию монооксида углерода. Так, у лиц с исходно более высоким уровнем CD8-маркеров отмечается снижение, а у лиц с исходно низким уровнем – повышение содержания этого маркера на поверхности мембран лимфоцитов крови доноров. Полученные данные изменений рецепторного профиля лимфоцитов крови в присутствии низкомолекулярного лиганда (СО) необходимо принимать во внимание при проведении УФОК-терапии больных различной этиологии.

**Ключевые слова:** лимфоциты, монооксид углерода, УФ-свет, иммуноферментный анализ, проточная цитофлуориметрия

## THE EXPRESSION LEVEL OF THE MOLECULES OF THE RECEPTOR COMPLEX CD95 AND CD8 HUMAN BLOOD LYMPHOCYTES UNDER CARBON MONOXIDE AND ULTRAVIOLET LIGHT INFLUENCE

\*V. G. Artyukhov, O. I. Tyunina, E. V. Dorohov

\*Voronezh State University,  
Voronezh State Medical Academy named N. N. Burdenko, Voronezh, Russia

By means of enzymeimmunoassay and flow cytofluorometry the effect of carbon monoxide and ultraviolet (UV)-light on the expression level of the receptor complex molecules (CD95 and CD8 markers) on the membranes of human blood lymphocytes has been studied. It was stated that the carbon monoxide causes decrease of CD95 receptors on the surface immune cells during (60 ÷ 90 min). However, strengthening of this effect was registered in 24 hours. It is shown that UV-light in 453 and 755 J/m<sup>2</sup> doses provides the pro-apoptotic effect as related to the expression level of CD95 receptors of analyzed cells. After daily thermostating of modified lymphocytes, different receptiveness of CD8 molecules to carbon monoxide was revealed. Thus, in patients with initially higher levels of CD8 markers - decrease is registered, and in individuals with initially low - increase in this marker levels. The obtained data of blood lymphocytes receptor profile changes in the presence of low molecular ligand (CO) must be taken into account in the Ultraviolet Blood Irradiation-therapy in patients with different etiologies.

**Keywords:** lymphocytes, carbon monoxide, UV-light, enzymeimmunoassay, cytofluorometry

### Библиографическая ссылка:

Артюхов В. Г., Тюнина О. И., Дорохов Е. В. Уровень экспрессии молекул рецепторного комплекса CD95 и CD8 лимфоцитов крови человека в условиях воздействия монооксида углерода и ультрафиолетового света // Экология человека. 2016. № 7. С. 37–43.

Artyukhov V. G., Tyunina O. I., Dorohov E. V. The Expression Level of the Molecules of the Receptor Complex CD95 and CD8 Human Blood Lymphocytes under Carbon Monoxide and Ultraviolet Light Influence. *Ekologiya cheloveka* [Human Ecology]. 2016, 7, pp. 37-43.

Обширная распространенность зон с высокой концентрацией угарного газа (оксид углерода (II), монооксид углерода, СО) в среде обитания человека определяет высокую частоту и неблагоприятные исходы отравлений данным веществом. Однако в исследованиях последних лет показано, что молекула СО может играть полезную роль в организме человека. В норме оксид углерода (II) образуется в организме человека при деградации гемсодержащих соединений [11]. Показано [9], что СО в низких концентрациях, наравне с NO, необходим для функционирования

практически всех органов и тканей. Монооксид углерода вовлечен в регуляцию иммунных процессов, тонуса сосудов, передачу импульсов в мозге, он ингибирует провоспалительные сигнальные пути и способствует индукции антипролиферативных, антикоагуляционных и антиапоптотических механизмов [11]. Воздействие монооксида углерода на иммунокомпетентные клетки может привести к нарушению функционирования систем иммунитета, а возможно, и гибели иммунокомпетентных клеток. Лимфоциты – один из видов клеток защитной системы организма,

которые обеспечивают клеточные и гуморальные формы иммунного ответа. Гибель лимфоцитов при действии экстремальных факторов может происходить в форме программируемой клеточной смерти (апоптоза). Апоптоз способен индуцироваться извне, и клетка самостоятельно начнет запускать программу собственной смерти при определенных условиях и быстро элиминировать клетки, ставшие ненужными [1]. На мембранах лимфоцитов экспрессируются Fas-рецепторы (CD95), которые являются молекулами, запускающими апоптоз по рецепторзависимому пути [15]. По сведениям А. Ю. Барышникова и соавт. [6], а также М. Massaia et al. [17], антиген присутствует на поверхности 23–25 % лимфоцитов периферической крови здоровых людей. Реализация цитотоксической (апоптогенной) активности лимфоцитов может осуществляться путем экзоцитоза цитолитических ферментов – перфоринов и гранзимов. Посредством перфоринов в мембране клетки-мишени образуются поры, через которые поступают гранзимы, напрямую активирующие каспазы-8, -3 и запускающие таким образом каскад внутриклеточных разрушений [14]. Необходимость коррекции поражений лимфоцитов крови как в случае хронических интоксикаций, так и при острых отравлениях является актуальной проблемой в лечении подобного рода нарушений иммунной системы. Для коррекции нарушений в работе иммунной системы больных с различной патологией в современной практике применяют метод аутотрансфузии ультрафиолетом (УФ) облученной крови (АУФОК-терапии). АУФОК приводит к активации иммунных процессов, улучшает иммунологический статус организма, что может быть следствием структурно-функциональных изменений иммунокомпетентных клеток крови после их фотомодификации.

Однако механизмы воздействия монооксида углерода и УФ-облучения, связанные с состоянием CD95- и CD8-маркеров, остаются до конца не изученными и требуют дополнительного анализа.

Целью нашей работы являлось исследование влияния монооксида углерода в течение 5 ÷ 90 мин и УФ-облучения (240–390 нм) в дозах 151, 453 и 755 Дж/м<sup>2</sup> на уровень экспрессии молекул их рецепторного комплекса (CD95, CD8) на поверхности мембран лимфоцитов крови человека.

### Методы

Объектом исследования служили лимфоциты, полученные из гепаринизированной крови доноров методом седиментации (300 г, 15 мин) в градиенте плотности фиколл-урографина ( $\rho = 1,077 \text{ г/см}^3$ ) по методу А. Воуит [2].

Суспензию лимфоцитарных клеток помещали в атмосферу оксида углерода (II), который получали лабораторным способом по химической реакции между концентрированными серной и муравьиной кислотами в колбе с закрытой крышкой и газоотводной трубкой (соотношение 1:1) [7]. Модификация монооксидом

углерода исследуемых клеток крови длилась 5, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 60, 75 и 90 мин.

Количество образовавшегося оксида углерода (II) определяли спектрофотометрическим методом [12] по содержанию карбоксигемоглобина в гепаринизированной крови доноров. Оптическая плотность растворов карбоксигемоглобина человека измерялась при  $\lambda = 538 \text{ нм}$  с помощью спектрофотометра «Shimadzu RF-5301 PC» (Япония). Концентрация HbCO в нативной крови составила 0,30 %, а после 60 мин пропускания CO через ее растворы она достигла значения 0,58 %, через 75 мин – 0,75 %, через 90 мин – 0,86 %, что соответствует 0,002; 0,004; 0,005 и 0,006 мг/л HbCO. Таким образом, используемые для модификации исследуемых клеток концентрации CO не превышали физиологического уровня содержания лиганда в крови здоровых лиц [10].

Суспензии нативных и СО-модифицированных иммуноцитов в объеме 1 мл облучали сверху светом ртутно-кварцевой лампы типа «ДРТ-400» (Россия) через светофильтр УФС-1 с полосой пропускания 240–390 нм (со спектральными линиями 253,7, 265,2, 280,0, 296,7, 302,2, 312,6, и 365,0 нм) в стеклянной термостатируемой кювете ( $20 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ ) при их непрерывном перемешивании магнитной мешалкой. Расстояние от оси лампы до кюветы с суспензией клеток составляло 0,23 м. Интенсивность излучения лампы – 151 Дж/м<sup>2</sup> в 1 мин. Время воздействия УФ-излучения на суспензию лимфоцитов составляло 1, 3 и 5 мин (соответственно дозы облучения равнялись 151, 453 и 755 Дж/м<sup>2</sup>).

Для определения уровня экспрессии изучаемых маркеров на поверхности мембран нативных, СО- и УФ-модифицированных лимфоцитов применяли методы твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) и проточной цитофлуориметрии.

При проведении ИФА в работе использовали суспензию лимфоцитов, моноклональные антитела серии LT95 и LT8 против CD95 и CD8-маркеров человека соответственно и конъюгат козьих антител против IgG мыши с пероксидазой хрена («Сорбент», Москва). В качестве субстрата для пероксидазы использовали раствор ортофенилендиаминдигидрохлорида в цитратно-ацетатном буфере (рН 5,0) с добавлением 0,2 % раствора пероксида водорода. Результаты учитывали спектрофотометрически ( $\lambda = 492 \text{ нм}$ ) на вертикальном фотометре «Униплан» (Пикон, Москва) и выражали в единицах оптической плотности.

При использовании метода проточной цитофлуориметрии суспензию лимфоцитов анализировали на проточном цитофлуориметре «EPICS XL-MCL» («Beckman coulter», США). В работе использовали моноклональные антитела CD95, меченные FITC (Fluorescein Isothiocyanate), и соответствующие изотипические контроли («Beckman coulter», США). Количество клеток коррелирует с плотностью антигенов на клеточной поверхности. По величине средней интенсивности флуоресценции (СИФ) клеток после

взаимодействия со специфическими антителами, меченными флуорохромом, судили об уровне экспрессии изучаемых молекул после СО- и УФ-воздействия и результаты выражали в процентах.

Для статистической обработки результатов экспериментов использовали прикладную программу Microsoft Excel: определяли среднее значение, стандартное отклонение и доверительный интервал. Достоверность различий контрольных и опытных значений сравниваемых показателей рассчитывали по t-критерию Стьюдента при 5 % уровне значимости [4].

**Результаты**

Методом ИФА было установлено, что уровень экспрессии Fas-рецепторов на поверхности мембран интактных лимфоцитов крови доноров в среднем составлял  $(0,350 \pm 0,073)$  опт. ед. Суточная инкубация нативных лимфоцитов в термостате при 37 °С не отразилась на уровне CD95-рецепторов.

Инкубирование суспензии клеток в атмосфере СО при экспозиции 5÷45 мин не приводило к статистически значимым изменениям уровня экспрессии CD95-антигена по сравнению с контрольным образцом, а инкубация в течение 60, 75 и 90 мин сопровождалась снижением ИФА-сигнала до величин  $(0,235 \pm 0,040)$ ,  $(0,236 \pm 0,032)$  и  $(0,236 \pm 0,033)$  опт. ед. соответ-

ственно (рис. 1), то есть количество CD95-молекул на мембранах СО-модифицированных клеток уменьшилось на 32,2 % относительно контрольных образцов. После 24-часового нахождения исследуемых объектов в термостате эти показатели снизились и достигли значений  $(0,196 \pm 0,029)$ ,  $(0,190 \pm 0,030)$ ,  $(0,189 \pm 0,040)$  опт. ед., что составило в среднем 44–46 % от величины интактного контроля.

Для подтверждения факта снижения уровня экспрессии CD95-рецепторов на поверхности мембран СО-модифицированных (60, 75 и 90 мин) иммунцитов, полученного с помощью ИФА, были проведены эксперименты по изучению выраженности CD95-маркеров на поверхности нативных, СО- и УФ-модифицированных клеток методом проточной цитофлуориметрии.

Цитометрические исследования суспензий интактных лимфоцитов показали, что содержание CD95<sup>+</sup>-клеток составляло  $(36,0 \pm 3,1)$  %, а их СИФ –  $(3,0 \pm 0,2)$  усл. ед.

После воздействия на смесь лимфоцитов монооксида углерода в течение 60, 75 и 90 мин СИФ клеток понижалась соответственно на 13,6, 25,2 и 27,5 % (рис. 2). Полученные результаты подтверждают тестируемые нами с помощью метода ИФА изменения в исследуемой системе.

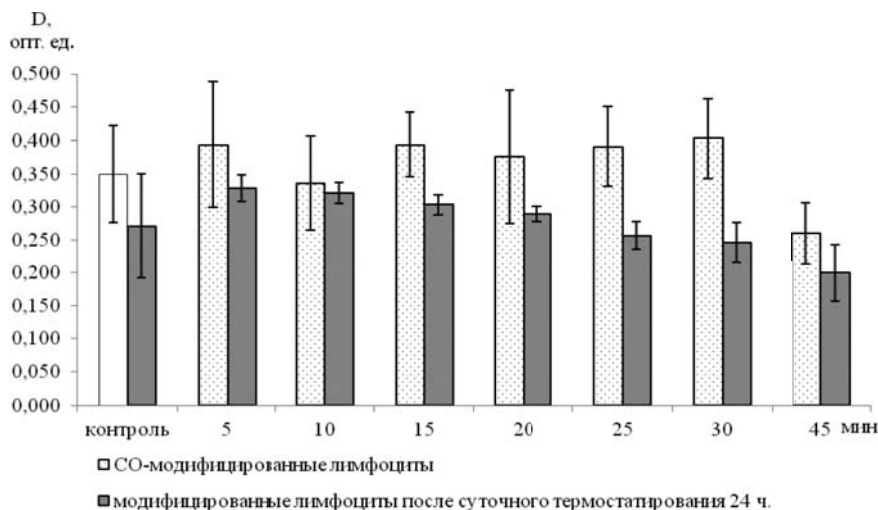


Рис. 1. Уровень экспрессии CD95 рецепторов нативными и СО-модифицированными (60 ÷ 90 мин) лимфоцитами до и после их суточного термостатирования

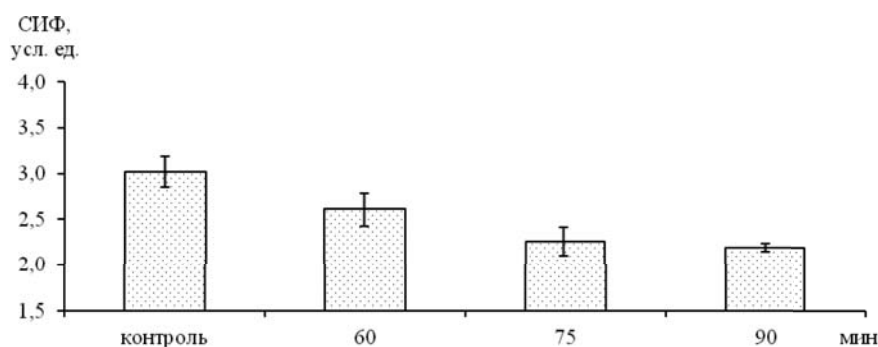


Рис. 2. Величины средней интенсивности флуоресценции CD95-маркеров на поверхности лимфоцитов крови человека, модифицированных монооксидом углерода (60, 75 и 90 мин)

УФ-облучение лимфоцитов в дозе 151 Дж/м<sup>2</sup> не приводило к статистически значимым изменениям уровня экспрессии CD95-маркеров. УФ-излучение в дозах 453 и 755 Дж/м<sup>2</sup> вызывало повышение тестируемого показателя, что выражалось в возрастании его значений соответственно на 13,3 и 12,6 % по сравнению с контрольными образцами. Влияние УФ-излучения в дозе 151 Дж/м<sup>2</sup> на лимфоциты, инкубированные с СО в течение 60 мин, проявлялось в возрастании уровня экспрессии CD95-маркеров иммунокомпетентных клеток на 10,1%. В случае инкубации лимфоцитов в атмосфере монооксида углерода в течение 75 и 90 мин обнаружить статистически значимые изменения анализируемого показателя у фотомодифицированных клеток (по сравнению с аналогичным образцом без облучения) не удалось (рис. 3).

В условиях сочетанного воздействия монооксида углерода в течение 60 и 75 мин и УФ-излучения в

дозе 453 Дж/м<sup>2</sup> уровень экспрессии CD95-антигенов лимфоцитов по сравнению с контролем в первом случае увеличился на 10,4 %, во втором уменьшился на 23,5 %.

В образцах, модифицированных воздействием СО в течение 90 мин, УФ-излучение в дозе 755 Дж/м<sup>2</sup> индуцировало увеличение СИФ CD95<sup>+</sup>-клеток относительно необлученного образца на 5,9 %.

По уровню экспрессии и характеру ответа CD8-антигенов на модификацию лимфоцитов оксидом углерода (II) доноры были разделены на две группы.

Уровень экспрессии CD8-молекул на поверхности мембран интактных клеток первой группы доноров составил в среднем (0,313 ± 0,041) опт. ед. Инкубирование суспензии клеток в атмосфере СО 5-90 мин не привело к статистически значимым изменениям ИФА-показателя по сравнению с контрольным образцом, то есть количество CD8-молекул на мембранах

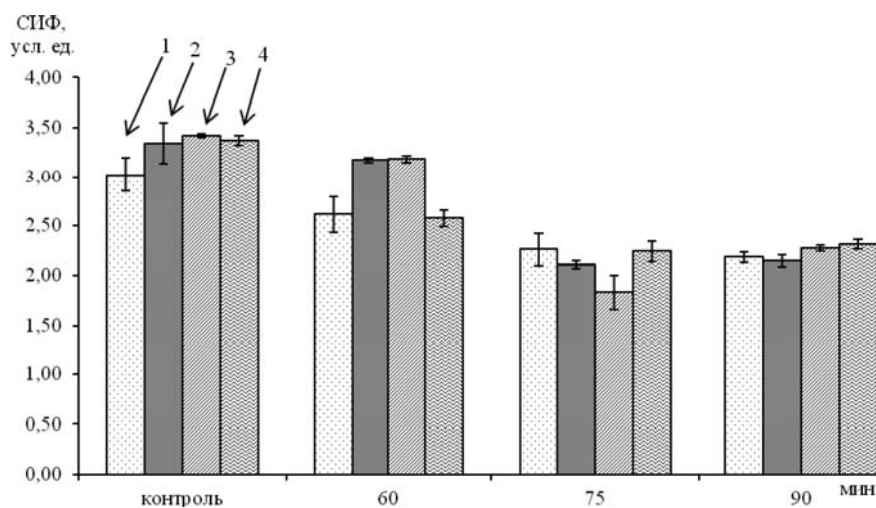


Рис. 3. Величины средней интенсивности флуоресценции CD95-маркеров на поверхности лимфоцитов крови человека, модифицированных монооксидом углерода и УФ-излучением: 1 – без облучения; 2 – 151 Дж/м<sup>2</sup>; 3 – 453 Дж/м<sup>2</sup>; 4 – 755 Дж/м<sup>2</sup>

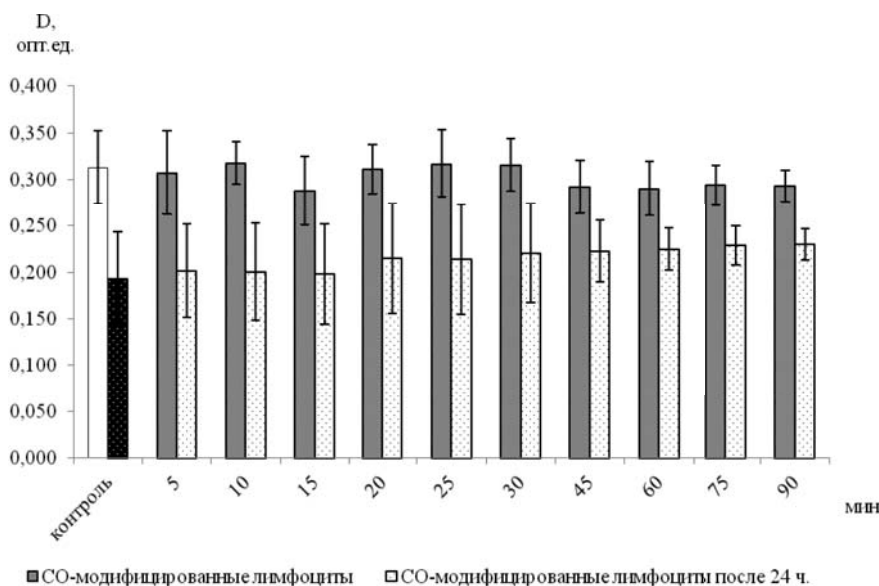


Рис. 4. Уровень экспрессии CD8-рецепторов СО-модифицированных лимфоцитов крови человека до и после 24 ч инкубации (1-я группа доноров)

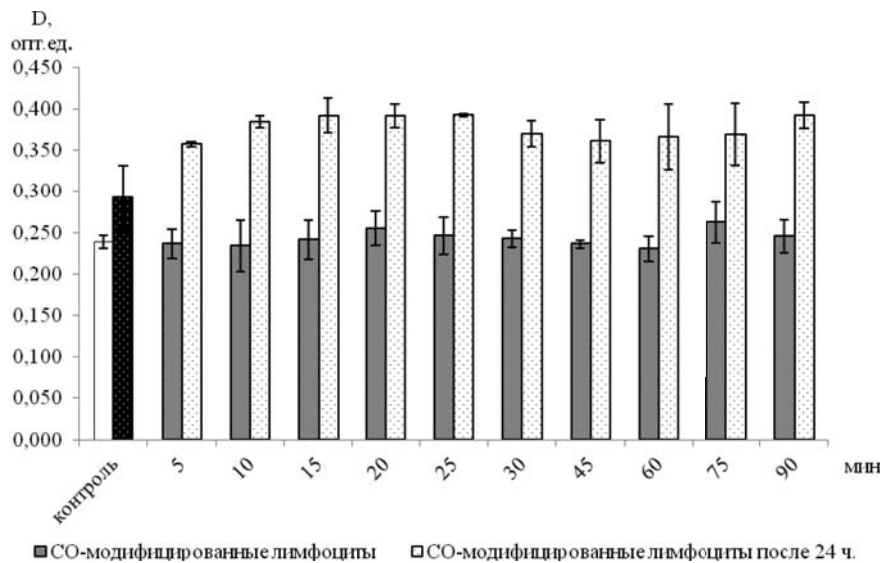


Рис. 5. Уровень экспрессии CD8-рецепторов СО-модифицированных лимфоцитов крови человека до и после 24 ч инкубации (2-я группа доноров)

клеток, модифицированных СО в течение исследуемого диапазона времени, не изменилось.

После суточного нахождения нативных объектов в термостате (37 °С) мы зарегистрировали статистически значимое снижение уровня экспрессии CD8-молекул до значения  $(0,183 \pm 0,029)$  опт. ед. (на 41,5 % по сравнению с интактными клетками). У лимфоцитов, СО-модифицированных в течение 5–90 мин и подвергшихся суточному инкубированию в термостате, также наблюдалось уменьшение количества CD8-маркеров на поверхности мембран лимфоцитов на 16–42 % (рис. 4).

Во вторую группу вошли доноры, у которых уровень экспрессии CD8-молекул нативных лимфоцитов был изначально меньше, чем у лиц первой группы, и в среднем составлял  $(0,239 \pm 0,010)$  опт. ед. После инкубирования лимфоцитов в атмосфере оксида углерода (II) в течение 5–90 мин, как и у первой группы доноров, не происходило статистически значимых изменений количества CD8-антигенов на поверхности мембран лимфоцитов относительно контрольных образцов. Суточная инкубация интактных клеток этой группы доноров в термостате при 37 °С приводила к статистически значимому увеличению уровня экспрессии CD8-маркеров лимфоцитарных клеток –  $(0,292 \pm 0,040)$  опт. ед. Суточное нахождение исследуемых СО-модифицированных клеток в термостате индуцировало рост экспрессии исследуемых молекул на 28–64 % (рис. 5).

Разнонаправленная ответная реакция лимфоцитов крови человека на воздействие оксида углерода (II), вероятно, обусловлена различной СО-чувствительностью CD8-рецепторов разных групп лиц.

#### Обсуждение результатов

Наблюдаемое падение экспрессии CD95-маркеров на поверхности лимфоцитов после инкубации в

атмосфере СО (60, 75 и 90 мин) может свидетельствовать о нарушении рецепторопосредованного пути развития апоптоза и служить предпосылкой развития гипотезы об антиапоптотическом потенциале монооксида углерода.

Представленные нами данные согласуются с исследованиями, проведенными ранее на других типах животных клеток. Так, добавление в клеточные культуры экзогенного СО препятствовало TNF (Fas/CD95)-индуцированному апоптозу мышечных фибробластов, эндотелиальных клеток,  $\beta$ -клеток поджелудочной железы. Выявлено, что ингибирующее воздействие монооксида углерода на TNF-индуцированный апоптоз эндотелиальных клеток может быть отменено при действии на клетки селективного ингибитора MAP-киназы p38 [16]. Показано [13], что p38 обладает проапоптотическими свойствами, которые реализуются за счет фосфорилирования транскрипционного фактора p53. Song R. et al. [18] продемонстрировали, что для ингибирования митохондриального пути реализации апоптоза СО способен активировать MAP-киназу p38 и приводить к фосфорилированию ERK MAP-киназ, увеличивающих рецепторный апоптотический путь. В проведенных экспериментах с использованием монооксида углерода было показано, что СО может обладать антиапоптотическими свойствами за счет индукции NF- $\kappa$ B-зависимых генов, препятствующих деполяризации митохондрий [19].

УФ-излучение в дозах 453–755 Дж/м<sup>2</sup>, по всей вероятности, проявляет проапоптотическое действие, что подтверждается повышением СИФ CD95-рецепторов на поверхности лимфоцитов крови человека (известно, что возрастание количества этого антигена на поверхности мембран клеток является предпосылкой развития апоптоза). Увеличение экспрессии CD95-маркеров после воздействия УФ-света может быть связано с конформационными перестройками, вызывающими их переориентировку в

мембране, что в последующем может привести к изменению локализации исследуемых антигенов на поверхности клетки. Помимо конформационных изменений мембрансвязанных белков к фотоиндуцируемыми перестройкам рецепторного материала может приводить интенсификация процессов ПОЛ и ПФОЛ, накопление активных форм кислорода и токсичных продуктов [3, 7]. Сочетанное действие монооксида углерода и УФ-света на иммунокомпетентные клетки способствует разновекторным изменениям параметров экспрессии CD95-рецепторов.

В ходе проведенных нами исследований было показано иммуномодулирующее действие оксида углерода (II) после 24 часов нахождения СО-модифицированных лимфоцитов в термостате на экспрессию CD8-молекул на поверхности мембран лимфоцитов. Это выражалось в зависимости между исходным уровнем CD8-маркеров и ответной реакцией его молекул на воздействие монооксида углерода: тестируемый показатель снижался после суточного термостатирования модифицированных лимфоцитов у доноров с исходно высокими (1-я группа) и возрастал у лиц с исходно низкими (2-я группа) его значениями. Таким образом, нами установлено, что оксид углерода (II) существенно модулирует состояние CD8-антигенов мембран лимфоцитов, вызывая неодинаковые изменения экспрессии изучаемой молекулы. Выявленные закономерности изменения маркерной молекулы цитотоксических лимфоцитов в присутствии СО необходимо учитывать при лечении острых отравлений оксидом углерода (II), а также при анализе хронических СО-интоксикаций [5].

Воздействие УФ-излучения может привести к развитию апоптоза лимфоцитов крови человека и развитию процессов ПОЛ и ПФОЛ, поэтому безопаснее использовать для лечения различных заболеваний человека малые («физиологические») дозы облучения.

Результаты изучения индуцированных УФ-излучением и монооксидом углерода структурно-функциональных признаков апоптоза лимфоцитов крови человека необходимы для понимания тонких механизмов работы компонентов иммунной системы в норме и при патологии. Выявленные нами изменения рецепторного профиля иммунокомпетентных клеток в присутствии низкомолекулярного лиганда (СО) могут отразиться на их активности, что необходимо принимать во внимание при проведении УФОК-терапии больных различной этиологии.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках реализации ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 годы» (ФЦП ИР14-20) мероприятие 3.1.2. «Поддержка и развитие центров коллективного пользования научным оборудованием». Соглашение № 14.593.21.0001, идентификатор проекта RFMEFI59314X0001.*

#### Список литературы

1. Аббасова С. Г., Кушлинский Н. Е., Липкин В. М. Факты и перспективы изучения Fas-FasL-системы в норме и при патологии // Успехи современной биологии. 2000. Т. 120, № 3. С. 303–318.
2. Антитела. Методы / под ред. Д. Кэтти: в 2 кн. М. : Мир, 1991. Кн. 2. 380 с.
3. Артюхов В. Г., Ковалева Т. А., Наквасина М. А., Башарина О. В., Путинцева О. В., Шмелев В. П. Биофизика. М. : Академический проект ; Екатеринбург : Деловая книга, 2009. 294 с.
4. Артюхов В. Г., Пантявин А. А. Математические методы в биологии. Воронеж : Изд-во Воронежского государственного университета, 2007. 28 с.
5. Артюхов В. Г., Путинцева О. В., Бахметьева О. И. Влияние оксида углерода (II) на уровень экспрессии CD8 рецепторов лимфоцитами крови человека // Вестник ВГУ: серия Химия. Биология. Фармация. 2011. № 2. С. 84–87.
6. Барышников А. Ю., Шишкин Ю. В. Иммунологические проблемы апоптоза. М. : Эдиториал УССР, 2002. 320 с.
7. Глазунова В. А., Штиль А. А. Митохондриальные механизмы апоптоза в ответ на повреждение ДНК // Молекулярная биология, 2008. Т. 42, № 5. С. 765–771.
8. Грандберг И. И. Органическая химия. М. : Дрофа, 2002. 672 с.
9. Загоскин П. П. Новые данные о физиологической роли монооксида углерода // Нижегородский медицинский журнал. 2008. № 3. С. 103–110.
10. Калетина М. И. Токсикологическая химия. Метаболизм и анализ токсикантов. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2008. С. 76.
11. Коржов В. И., Видмаченко А. В., Коржов М. В. Монооксид углерода (обзор литературы) // Журнал АМН Украины. 2010. Т. 16, № 1. С. 23–37.
12. Крамаренко В. Ф., Собчук Б. А., Гладышевский Т. П., Сыцянюк Г. Л. О количественном определении карбоксигемоглобина и карбоксимоглобина (методическое указание). М. : МЗ СССР, 1974.
13. Рязанцева Н. В., Новицкий В. В., Кайгородова Е. В., Часовских Н. Ю., Старикова Е. Г. Митогенактивированные протеинкиназы JNK и P38 — редокс-зависимые молекулярные мишени нарушения апоптоза при окислительном стрессе // Успехи физиологических наук. 2009. Т. 40, № 2. С. 3–11.
14. Хаитов Р. М. Иммунология. М. : Медицина, 2000. 429 с.
15. Широкова А. В. Апоптоз. Сигнальные пути и изменение ионного и водного баланса клетки // Цитология. 2007. Т. 49, № 5. С. 385–394.
16. Inguaggiato P., Gonzales-Michaca L., Croatt A. J., Haggard J. J., Alam J., Nath K. A. Cellular overexpression of heme oxygenase-1 up-regulates p21 and confers resistance to apoptosis // Kidney Int. 2001. N 60. P. 2181–2191.
17. Massaia M., Borrione P., Attisano C., Barrae P. Dysregulated Fas and Bcl-2 expression leading to enhanced apoptosis in T-cell of multiple myeloma patients // Blood. 1995. Vol. 85. P. 3679–3687.
18. Song R., Zhou Z. Carbon monoxide promotes Fas/CD95-induced apoptosis in Jurkat cells // J. Biol. Chem. 2004. N 279. P. 44327–44334.
19. Zuckerbraun B. S. Carbon monoxide protects against liver failure through nitric oxide-induced heme oxygenase 1 // J. Exp. Med. 2003. Vol. 198. P. 1707–1716.

## References

1. Abbasova S. G., Kushlinski N. E., Lipkin V. M. Facts and prospects of studying the Fas-FasL system in norm and at a pathology. *Uspehi sovremennoi biologii* [Successes of modern biology]. 2000, 120 (3), pp. 303-318. [in Russian]
2. *Antitela. Metody* [The antibodies. Methods], ed. D. Katie. Moscow, 1991, 2, 380 p.
3. Artyukhov V. G., Kovaleva T. A., Nakvasina M. A., Basharina O. V., Putintseva O. V., Shmelev B. N. *Biophysika* [Biophysics]. Moscow, 2009. 294 p.
4. Artyukhov V. G., Pantyavin A. A. Пантявин А. А. *Matematicheskie metody v biologii* [Mathematical Methods in the Biology]. Voronezh, 2007, 28 p.
5. Artyukhov V. G., Putintseva O. V., Bakhmetieva O. I. Influence of carbon oxide (II) the level of expression of CD8 receptors lymphocytes human blood. *Vestnic Voronezhskogo Gosudarstvennogo Universiteta: Seriya Himiy. Biologiy. Farmaciya* [The Herald of the Voronezh State University: Series of Chemistry. Biology. Farmacia]. 2011, 2, pp. 84-87. [in Russian]
6. Baryshnikov A. Y., Shishkin Y. V. *Immunologicheskie problemy apoptosa* [Immunological problems apoptosis]. Moscow, 2002, 320 p.
7. Glazunova V. A., Shtil A. A. Mitochondrial mechanisms of apoptosis in response to DNA damage. *Moleculyarnaya biologiya* [Molecular Biology]. 2008, 42 (5), pp. 765-771. [in Russian]
8. Grandberg I. I. *Organicheskaya himiya* [Organic Chemistry]. Moscow, 2002, 672 p.
9. Zagoskin P. P. New data on the physiological role of carbon monoxide. *Nizhegorodskii meditsinskii zhurnal* [Nizhny Novgorod Med. Magazine]. 2008, 3, pp. 103-110. [in Russian]
10. Kaletina M. I. *Toksikologicheskaya himiya. Metabolism i analisis toksicantov* [Toxicological Chemistry. Metabolism and analysis of toxicants]. Moscow, 2008, p. 76.
11. Korzhov V. I., Vidmachenko A. V., Korzhov M. V. Carbon monoxide (review). *Zhyrнал AMN Ukrainy* [Journal of Medical Sciences of Ukraine]. 2010, 16 (1), pp. 23-37. [in Russian]
12. Kramarenko V. F., Sobchuk B. A., Gladyshevsky T. P., Sitsyanko G. L. *O kolichestvennom opredelenii karboksigemoglobina i karboksimioglobina (metodicheskoe ucazanie)* [On the quantitative determination of carboxyhemoglobin and karboksimioglobina (methodical instructions)]. Moscow, 1974, 17 p.
13. Ryazantseva N. V., Novitsky V. V., Kaygorodova E. V., Chasovskikh N. Y., Starikova E. G. Mitogen-activated protein kinases p38 and JNK - redox-sensitive molecular targets violations of apoptosis by oxidative stress. *Uspehi phisiologicheskikh nauk* [Advances of Physiological Sciences]. 2009, 40 (2), pp. 3-11. [in Russian]
14. Haitov R. M. *Immunologiya* [Immunology]. Moscow, 2000, 429 p.
15. Shirokova A. V. Apoptosis. Signaling pathways and changes in ion and water balance of the cells. *Citologiya* [Cytology]. 2007, 49 (5), pp. 385-394. [in Russian]
16. Inguaggiato P., Gonzales-Michaca L., Croatt A. J., Haggard J.J., Alam J., Nath K.A. Cellular overexpression of heme oxygenase-1 up-regulates p21 and confers resistance to apoptosis. *Kidney Int.*, 2001, 60, pp. 2181-2191.
17. Massaia M., Borrione P., Attisano C., Barrae P. Dysregulated Fas and B1-2 expression leading to enhanced apoptosis in T-cell of multiple myeloma patients. *Blood*, 1995, 85, pp. 3679-3687.
18. Song R., Zhou Z. Carbon monoxide promotes Fas/CD95-induced apoptosis in Jurkat cell. *J. Biol. Chem.*, 2004, 279, pp. 44327-44334.
19. Zuckerbraun B. S. Carbon monoxide protects against liver failure through nitric oxide-induced heme oxygenase 1. *J. Exp. Med.*, 2003, 198, pp. 1707-1716.

## Контактная информация:

Дорохов Евгений Владимирович — кандидат медицинских наук, заведующий кафедрой нормальной физиологии ГБОУ ВПО «Воронежская медицинская академия имени Н. Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Адрес: 394036, г. Воронеж, ул. Чайковского, 3а  
E-mail: dorofov@mail.ru