

©Коллектив авторов

РЕДОКС-ЗАВИСИМЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ПРОЛИФЕРАЦИИ КЛЕТОК ЭПИТЕЛИЯ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Е.А. Степовая, Е.В. Шахристова*, О.Л. Носарева, Е.В. Рудиков, М.Ю. Егорова, Д.Ю. Егорова, В.В. Новицкий

Сибирский государственный медицинский университет,
634050, Томск, Московский тракт, 2; эл. почта: shaxristova@yandex.ru

Активация свободнорадикального окисления в различных типах клеток, в том числе клетках эпителия молочной железы, способна приводить к повреждению макромолекул, в частности белков, участвующих в регуляции пролиферации и программированной клеточной гибели. В поддержании внутриклеточного редокс-гомеостаза важную роль играют системы глутатиона, тиоредоксина и глутаредоксина. В связи с этим модуляция редокс-статуса клеток при действии блокатора и протектора SH-групп белков может быть использована в качестве модели для изучения роли редокс-белков и глутатиона в регуляции пролиферации клеток при развитии различных патологических процессов. В данной работе исследовали состояние систем тиоредоксина, глутаредоксина, глутатиона и их роль в регуляции пролиферации клеток эпителия молочной железы линии HBL-100 при модуляции редокс-статуса с помощью N-этилмалеимида и 1,4-дителиозитрита. Модуляция редокс-статуса клеток эпителия молочной железы при действии блокатора (N-этилмалеимида) и протектора (1,4-дителиозитрита) тиоловых групп белков и пептидов, способствует изменению функциональной активности глутатионзависимых ферментов, глутаредоксина, тиоредоксина и тиоредоксинредуктазы посредством изменения концентрации GSH и GSSG. В клетках линии HBL-100 при модуляции редокс-статуса обнаружено увеличение количества клеток в S фазе клеточного цикла и снижение – в G₀/G₁ и G₂/M фазах по сравнению со значениями показателей в интактной культуре. Предложенный способ оценки пролиферативной активности клеток при модуляции их редокс-состояния может быть использован при разработке новых терапевтических подходов для лечения заболеваний, сопровождающихся развитием окислительного стресса.

Ключевые слова: тиоредоксин, глутаредоксин, глутатион, окислительный стресс, пролиферация, клетки эпителия молочной железы

DOI 10.18097/PBMC20176302159

ВВЕДЕНИЕ

Окислительный стресс лежит в основе патогенеза многих заболеваний, таких как сердечно-сосудистые, нейро-дегенеративные, воспалительные, онкологические, а также процессов адаптации и старения [1]. Активация свободнорадикального окисления с возрастанием продукции активных форм кислорода (АФК) в различных типах клеток, в том числе клеток эпителия молочной железы, приводит к повреждению макромолекул, в частности белков, участвующих в регуляции пролиферации и программированной клеточной гибели [1-6]. В поддержании внутриклеточного редокс-гомеостаза важную роль играют системы глутатиона, тиоредоксина и глутаредоксина, функционирование которых приводит к снижению уровня АФК, изменению активности факторов транскрипции и экспрессии ряда генов при адаптивных реакциях клеток на изменяющиеся условия [1, 3, 7-9]. В условиях развития окислительного стресса, глутатион посредством глутатионилирования защищает SH-группы ряда белков, в том числе транскрипционных факторов (NF-κB, p53, Nrf2 и AP-1), под контролем которых находятся гены, кодирующие ключевые белки-регуляторы пролиферации клеток [10]. В то же время глутаредоксин, способный деглутатионилировать белки по SH-группам аминокислотных остатков цистеина, участвуя в поддержании структуры

и функций редокс-регулируемых протеинов, восстанавливает функциональную активность ряда ферментов (глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа, протеинтирозинфосфатаза 1B, креатинкиназа, каспаза-3) [11].

Тиоредоксин, взаимодействуя с АФК, может восстанавливать окисленный глутатион, пероксиредоксины, выступать кофактором рибонуклеотид- и метионинсульфоксидредуктаз, участвуя в репарации ДНК, сохранять дитиол/дисульфидную структуру белков [7, 12, 13], способствуя редокс-модуляции функции внутриклеточных протеинов, что позволяет предполагать его важную роль в регуляции прогрессии фаз клеточного цикла [14].

Клеточные культуры являются удобной модельной системой для проведения исследований *in vitro* молекулярных механизмов развития различных патологических процессов, поскольку их использование позволяет исключить многие неспецифические факторы, сопровождающие редокс-модуляцию *in vivo*. Модуляция редокс-статуса в эпителиальных клетках молочной железы под действием блокатора SH-группы белков и пептидов N-этилмалеимида (NEM) и протектора тиоловых групп 1,4-дителиозитрита (DTE) может быть использована в качестве модели изменения внутриклеточного редокс-гомеостаза и применяться для установления роли редокс-белков, в том числе

* - адресат для переписки

систем глутатиона и тиоредоксина, в регуляции пролиферации клеток при развитии различных патологических процессов.

Цель работы – оценка состояния систем тиоредоксина, глутаредоксина, глутатиона и их роль в редокс-зависимой регуляции пролиферации клеток эпителия молочной железы линии HBL-100 при модуляции редокс-статуса с помощью N-этилмалеимида и 1,4-дитиозритритола.

МЕТОДИКА

Материалом исследования служили клетки эпителия молочной железы человека (HBL-100), полученные из Российской коллекции клеточных культур Института цитологии Российской академии наук (Санкт-Петербург). Клетки линии HBL-100 культивировали адгезионным методом в полной питательной среде, содержащей 90% RPMI-1640 (“ПанЭко”, Россия), 10% эмбриональной телячьей сыворотки (“Invitrogen”, США), 0,3 мг/мл L-глутамин (“ПанЭко”, Россия) и 100 мкг/мл гентамицина (“INS”, США). Жизнеспособность клеток оценивали микроскопическим методом с трипановым синим (“Serva”, США).

Редокс-статус модулировали, инкубируя клетки эпителия молочной железы в течение 18 ч при 37°C и 5% CO₂ в присутствии 5 мМ NEM (“Sigma-Aldrich”, США), необратимо связывающего тиоловые группы [15] или 5 мМ DTE (“Sigma-Aldrich”), поддерживающего SH-группы белков и пептидов в восстановленном состоянии [16].

Детекцию образования активных форм кислорода (АФК) в культуре клеток линии HBL-100 осуществляли с использованием флуоресцентного зонда 2,7-дихлорфлуоресцеиндиацетата (“Sigma-Aldrich”), который способен проникать через цитоплазматическую мембрану клеток в виде ацетилового эфира [17]. В цитоплазме зонд деэстерифицируется под действием эстераз до 2,7-дихлорфлуоресцеина и взаимодействует с гидро- и липопероксидами. Внутриклеточную продукцию АФК оценивали по интенсивности флуоресценции 2,7-дихлорфлуоресцеина на проточном лазерном цитометре “BD FaCSCanto II” (“Becton Dickinson”, США).

Состояние глутатионзависимой системы антиоксидантной защиты в интактных клетках линии HBL-100 и при модуляции редокс-статуса оценивали по содержанию восстановленной (GSH) и окисленной (GSSG) форм глутатиона, которые определяли по методу Rahman [18], принцип которого основан на их способности взаимодействовать с 5,5-дитиобис-2-нитробензойной кислотой с образованием тионитрофенольного аниона, имеющего характерный максимум поглощения при длине волны 412 нм. При этом образуется GSSG, который восстанавливается глутатионредуктазой и восстановленная форма трипептида вновь взаимодействует с 5,5-дитиобис-2-нитробензойной кислотой. Скорость образования окрашенного продукта пропорциональна содержанию общего

глутатиона. Для определения GSSG пробы предварительно инкубировали с блокатором SH-групп – 2-винилпиридином (“Wako”, Япония), который необратимо связывал в пробе восстановленный глутатион, и поэтому в данном случае, скорость образования окрашенного продукта была пропорциональна содержанию GSSG. Также мы рассчитывали величину отношения восстановленной формы трипептида к окисленной (GSH/GSSG), которая отражает редокс-потенциал системы глутатиона.

Активность глутатионредуктазы (КФ 1.6.4.2) оценивали по NADPH-зависимому восстановлению GSSG с дальнейшим его взаимодействием с 5,5-дитио-бис-2-нитробензойной кислотой, приводящему к образованию тио-2-нитробензойной кислоты, водный раствор которой имеет максимум поглощения при длине волны 412 нм [19]. Активность глутатионпероксидазы (КФ 1.11.1.9) определяли по способности фермента катализировать реакцию взаимодействия GSH с гидроперекисью трет-бутила. По изменению содержания GSH в пробах до и после инкубации с модельным субстратом с помощью цветной реакции с 5,5-дитио-бис-2-нитробензойной кислотой судили об активности фермента [20].

Активность тиоредоксинредуктазы (КФ 1.8.1.9) определяли методом, основанным на способности фермента катализировать NADPH-зависимое восстановление дисульфидных связей субстратов, реагирующих с 5,5-дитиобис-2-нитробензойной кислотой, образуя тио-2-нитробензойной кислоту, раствор которой имеет максимум поглощения при длине волны 412 нм [21]. Содержание белка в клетках определяли по взаимодействию красителя Кумасси голубого G-250 с аминокислотными остатками аргинина и лизина белковых молекул [22]. Внутриклеточное содержание тиоредоксина и глутаредоксина определяли методом вестерн-блоттинга с использованием моноклональных антител (“Thermo Scientific”, США; “Abcam”, США, соответственно) по протоколу фирмы производителя. Расчёт содержания исследуемых белков проводили относительно концентрации референсного протеина β-актина.

Для оценки распределения клеток эпителия молочной железы по фазам клеточного цикла (G₀/G₁, G₂/M и S) использовали набор CycleTest PLUS DNA Reagent Kit (“Becton Dickinson”). Метод основан на способности стехиометрического связывания ядерной ДНК с пропилий йодидом, флуоресцирующим при длине волны 580-650 нм, с последующим подсчётом интенсивности свечения изолированных ядер с помощью проточной цитофлуориметрии на проточном лазерном цитометре “BD FaCSCanto II” (“Becton Dickinson”) с дальнейшим анализом полученных данных с использованием пакета программ ModFit LT 3.2 (“Verity Software House”, США).

При оценке полученных данных использовали методы статистического описания и проверки статистических гипотез с применением программы SPSS 11.0 for Windows. Проверка на соответствие выборки нормальному закону распределения

проводилась критерием Шапиро-Вилка. В связи с отсутствием согласия данных с нормальным распределением на уровне значимости $p < 0,01$ и $p < 0,05$ вычисляли средневывборочные характеристики: медиана (Me), первый и третий квартили (Q_1 – Q_3). Достоверность различий независимых выборок оценивали с помощью непараметрических критериев Краскала-Уолиса и Манна-Уитни для малых групп. Различия считались достоверными при достигнутом уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ведущую роль в защите клеток от окислительного стресса и поддержании редокс-гомеостаза играет система глутатиона, включающая глутатион и ферменты антиоксидантной защиты, использующие этот трипептид в качестве кофактора, – глутатионредуктазу и глутатионпероксидазу [1, 3, 10]. В то же время функционирование систем глутаредоксина и тиоредоксина невозможно без глутатиона, необходимого для восстановления окисленных форм этих редокс-белков, образующихся в результате выполнения их функций [7, 9].

Использование редокс-модуляторов (блокатора и протектора тиоловых групп белков и пептидов) при культивировании клеток эпителия молочной железы позволяет оценить состояние систем тиоредоксина, глутаредоксина, глутатиона и их участие в редокс-зависимой регуляции пролиферации клеток при патологиях, сопровождающихся нарушением редокс-гомеостаза.

Культивирование клеток линии HBL-100 в присутствии блокатора SH-групп приводило к увеличению продукции АФК и снижению редокс-статуса клеток: уменьшению ($p < 0,01$) концентрации GSH и величины отношения GSH/GSSG по сравнению с аналогичными значениями показателей в интактной культуре (таблица). Смещение редокс-статуса в сторону окисления приводило к повышению ($p < 0,01$) активности глутатионредуктазы в клетках линии HBL-100, культивируемых в присутствии NEM, по сравнению с интактной культурой (таблица), что отражает высокую потребность клеток эпителия молочной железы в антиоксидантах, в частности GSH, необходимых для защиты макромолекул от свободнорадикального окисления и выживания клеток. Активность глутатионпероксидазы клеток эпителия молочной железы, культивируемых в присутствии NEM, была ниже ($p < 0,01$) таковой по сравнению с интактной культурой (таблица).

Помимо системы глутатиона, редокс-гомеостаз клеток поддерживает тиоредоксин- и глутаредоксин-зависимые системы. Нами было установлено, что в клетках линии HBL-100, культивируемых в присутствии NEM, увеличивалась ($p < 0,01$) концентрация тиоредоксина и глутаредоксина (таблица). Восстановленные формы этих редокс-белков необходимы для защиты от свободнорадикального повреждения внутриклеточных макромолекул, обеспечения функциональной активности белков, имеющих в своей структуре редокс-регулируемые центры. Тиоредоксинредуктаза при участии NADPH

Таблица. Состояние системы глутатиона, тиоредоксина, глутаредоксина в клетках эпителия молочной железы линии HBL-100 при действии блокатора SH-групп белков N-этилмалеимида (5 мМ) и протектора тиоловых групп - 1,4-дитиозритритола (5 мМ), Me (Q_1 – Q_3)

Исследуемые показатели	Клетки эпителия молочной железы линии HBL-100	Клетки эпителия молочной железы линии HBL-100 + N-этилмалеимид	Клетки эпителия молочной железы линии HBL-100 + 1,4-дитиозритритол
Активные формы кислорода, условные единицы	0,53 (0,52-0,58)	1,45* (1,43-1,57)	0,72 (0,61-0,75)
Восстановленный глутатион (GSH), нмоль/мг белка	5,39 (4,92-5,42)	2,46* (2,27-2,56)	6,92* (6,86-7,38)
Окисленный глутатион (GSSG), нмоль/мг белка	0,49 (0,45-0,49)	0,65* (0,64-0,68)	0,38* (0,38-0,39)
GSH/GSSG ^{&} , у.е.	11,50 (11,06-11,71)	3,78* (3,72-4,00)	18,52* (18,20-9,40)
Глутатионредуктаза ^{&} , мкмоль/мин×мг белка	54,64 (51,99-56,29)	116,20* (106,03-117,69)	77,18* (72,45-78,57)
Глутатионпероксидаза, нмоль/мин×мг белка	220,11 (214,76-223,31)	39,90* (36,81-40,42)	150,41* (148,24-153,61)
Тиоредоксинредуктаза ^{&} , нмоль/мин×мг белка	5,35 (4,91-5,49)	3,82# (3,75-4,14)	4,96 (4,90-5,42)
Глутаредоксин, у.е.	1,82 (1,74-1,86)	2,22* (2,09-2,38)	1,59* (1,53-1,71)
Тиоредоксин, у.е.	1,78 (1,76-1,79)	1,89* (1,87-1,90)	1,75# (1,74-1,77)

Примечание: * - $p < 0,01$ по сравнению с клетками эпителия молочной железы линии HBL-100, # - $p < 0,05$ по сравнению с клетками эпителия молочной железы линии HBL-100; & - данные взяты из нашей предыдущей работы [5].

катализирует восстановление тиоредоксиндисульфида до тиоредоксина, восстановительный потенциал которого используется клеткой для поддержания редокс-статуса и защиты от свободнорадикального повреждения. Однако, редокс-потенциал и функционирование системы тиоредоксин-тиоредоксинредуктаза в конечном итоге тесно связаны с работой системы глутатиона и соотношением содержания восстановленной и окисленной форм трипептида [7, 9]. При действии блокатора SH-групп активность тиоредоксинредуктазы в клетках линии HBL-100 снижалась по сравнению с интактной культурой (таблица).

Проводимые нами исследования показали, что DTE способствует смещению редокс-статуса клеток эпителия молочной железы в сторону восстановления, приводя к увеличению ($p<0,01$) концентрации GSH, величины отношения GSH/GSSG и активности глутатионредуктазы по сравнению с аналогичными значениями показателей в интактной культуре (таблица). Протекторное действие DTE на клетки эпителия молочной железы проявлялось наряду с этим в снижении активности глутатионпероксидазы, концентрации глутаредоксина и тиоредоксина.

Модуляция редокс-статуса в клетках линии HBL-100 под действием NEM и DTE приводила к нарушениям в прохождении клеток эпителия молочной железы по фазам клеточного цикла: увеличение ($p<0,01$) их количества в S фазе и снижение ($p<0,01$) – в G_0/G_1 и G_2/M фазах по сравнению с аналогичными значениями показателей в интактных клетках (рисунок). Можно предположить, что остановка клеточного цикла в S фазе при действии NEM и DTE является результатом изменения структуры, содержания, активности белковых комплексов циклины/циклинзависимые протеинкиназы и их компонентов, регулирующих пролиферацию. Циклины и циклинзависимые протеинкиназы, имеющие белковую природу, могут подвергаться свободнорадикальному окислению при индукции окислительного стресса блокатором тиоловых групп белков и пептидов, что может сопровождаться изменением конформации макромолекул, структуры активных центров ферментов, частичной или полной утратой способности протеинов выполнять свои функции, и в конечном итоге их протеолитической деградации [1, 2, 23]. В то же время, глутатионилирование протеинов, усиливающееся при действии протектора SH-групп, представляет

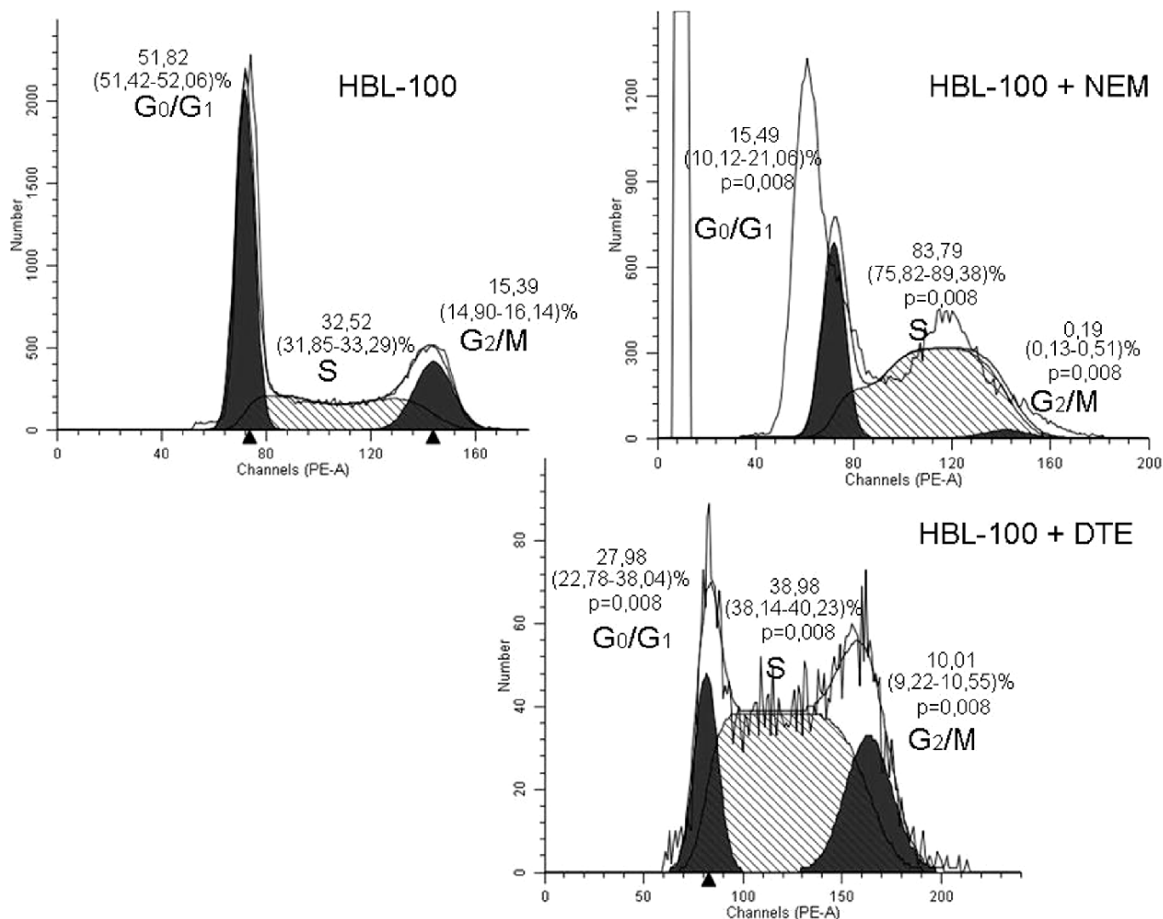


Рисунок. Распределение клеток эпителия молочной железы (HBL-100) по фазам клеточного цикла при действии блокатора SH-групп белков N-этилмалеимида (HBL-100 + NEM) и протектора тиоловых групп - 1,4-дителиоэритрита (HBL-100 + DTE), p - уровень значимости различий по сравнению с интактными клетками HBL-100. Заштрихованная область гистограммы отражает интенсивность флуоресценции клеток в S фазе клеточного цикла; затемнённая область гистограммы - интенсивность флуоресценции клеток, находящихся в G_0/G_1 и G_2/M фазах (отмечены на рисунке).

собой механизм обратимой модификации белковых молекул, способствующий редокс-регуляции внутриклеточных процессов [5], в том числе пролиферации на уровне экспрессии генов редокс-чувствительных транскрипционных факторов, в частности NF- κ B и Nrf2, под контролем которых находится синтез белков-регуляторов клеточного цикла [24].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Модуляция редокс-статуса клеток эпителия молочной железы при действии блокатора (NEM) и протектора (DTE) тиоловых групп белков и пептидов, способствует изменению функциональной активности глутатионзависимых ферментов, глутаредоксина, тиоредоксина и тиоредоксинредуктазы посредством изменения концентрации GSH и GSSG. В клетках линии HBL-100 при действии блокатора и протектора тиоловых групп белков и пептидов установлено увеличение количества клеток в S фазе клеточного цикла и снижение – в G₀/G₁ и G₂/M фазах по сравнению со значениями показателей в интактной культуре, опосредованное нарушением редокс-гомеостаза клеток, что может сопровождаться изменением содержания и функциональной активности белков-регуляторов пролиферации. Предложенный способ оценки пролиферативной активности клеток при модуляции их редокс-состояния может быть использован при разработке новых терапевтических подходов для лечения заболеваний, сопровождающихся развитием окислительного стресса.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследования выполнены в рамках гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских учёных – кандидатов наук (Грант № МК-1742.2017.7).

ЛИТЕРАТУРА

1. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З., Бондарь И.А., Труфакин В.А. (2008) Окислительный стресс: Патологические состояния и заболевания, АРТА, Новосибирск, 284 с.
2. Дубинина Е.Е. (2006) Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток (жизнь и смерть, созидание и разрушение). Физиологические и клиничко-биохимические аспекты, Медицинская пресса, СПб., 400 с.
3. Калинина Е.В., Чернов Н.Н., Алеид Р., Новичкова М.Д., Саприн А.Н., Березов Т.Т. (2010) Вестник Российской АМН, №3, 46-54.
4. Murphy M.P., Holmgren A., Larsson N.G., Halliwell B., Chang C.J., Kalyanaraman B., Rhee S.G., Thornalley P.J., Partridge L., Gems D., Nyström T., Belousov V., Schumacker P.T., Winterbourn C.C. (2011) Cell Metab., **14**(4), 361-366.
5. Степовая Е.А., Шахристова Е.В., Рязанцева Н.В., Носарева О.Л., Якушина В.Д., Носова А.И., Гуляя В.С., Степанова Е.А., Чильчигашев Р.И., Новицкий В.В. (2016) Биомед. химия, **62**, 64-68. DOI: 10.18097/PBMC20166201064.
6. Шахристова Е.В., Степовая Е.А., Рязанцева Н.В., Носарева О.Л., Якушина В.Д., Иванов В.В., Новицкий В.В. (2015) Бюлл. экспер. биол. мед., **9**, 351-354.
7. Калинина Е.В., Чернов Н.Н., Саприн А.Н. (2008) Успехи биологической химии, **48**, 319-358.
8. Shan W., Zhong W., Zhao R., Oberley T.D. (2010) Free Radic. Biol. Med., **49**(12), 2078-2087.
9. Lu J., Holmgren A. (2014) Free Radic. Biol. Med., **66**, 75-87.
10. Ray P.D., Huang B.W., Tsuiji Y. (2012) Cell Signal., **24**(5), 981-990.
11. Wang J., Boja E.S., Tan W., Tekle E., Fales H.M., English S., Mieryl J.J., Chock P.B. (2001) J. Biol. Chem., **276**(51), 47763-47766.
12. Sengupta R., Holmgren A. (2014) World J. Biol. Chem., **5**(1), 68-74.
13. Li L., Fath M.A., Scarbrough P.M., Watson W.H., Spitz D.R. (2015) Redox Biol., **4**, 127-135.
14. Степовая Е.А., Шахристова Е.В., Рязанцева Н.В., Носарева О.Л., Чильчигашев Р.И., Егорова М.Ю. (2016) Сибирский онкологический журнал, №4, 50-55.
15. Sahaf B., Heydari K., Herzenberg L.A. (2003) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **100**(7), 4001-4005.
16. Brunelli L., Crow J.P., Beckman J.S. (1995) Arch. Biochem. Biophys., **316**(1), 327-334.
17. Halliwell B., Whiteman M. (2004) Br. J. Pharmacol., **142**(2), 231-255.
18. Rahman I., Kode A., Biswas S.K. (2006) Nat. Protoc., **6**, 3159-3165.
19. Worthington D.J., Rosemeyer M.A. (1976) Eur. J. Biochem., **60**(1), 231-238.
20. Алексеев В.В. (2013) Медицинские лабораторные технологии: руководство по клинической лабораторной диагностике: в 2 томах, Москва, ГЭОТАР-Медиа, 792 с.
21. Tamura T., Stadtman T.C. (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **93**(3), 1006-1011.
22. Bradford M.M. (1976) Analyt. Biochem., **72**, 248-254.
23. Zhang Q., Sakamoto K., Wagner K.U. (2014) Mol. Cell. Endocrinol., **382**(1), 583-592.
24. Hill B.G., Bhatnagar A. (2012) J. Mol. Cell Cardiol., **52**(3), 559-567.

Поступила: 16. 02. 2017.
Принята к печати: 30. 03. 2017.

**REDOX-DEPENDENT MECHANISMS OF REGULATION
OF BREAST EPITHELIAL CELL PROLIFERATION**

E.A. Stepovaya, E.V. Shakhristova, O.L. Nosareva, E.V. Rudikov, M.Y. Egorova, D.Y. Egorova, V.V. Novitsky

Siberian State Medical University,
2 Moskovsky tract, Tomsk, 634050 Russia; e-mail: shaxristova@yandex.ru

Activation of free radical oxidation in different cell types, including breast epithelial cells, may result in damage to macromolecules, in particular, proteins taking part in regulation of cell proliferation and apoptosis. The glutathione, glutaredoxin and thioredoxin systems play an essential role in maintaining intracellular redox homeostasis. Due to this fact, modulation of cellular redox status under the effect of an SH group inhibitor and an SH group protector may be used as a model for studying the role of redox proteins and glutathione in regulating cell proliferation in different pathological processes. In this study we have evaluated the state of the thioredoxin, glutaredoxin and glutathione systems as well as their role in regulating proliferation of HBL-100 breast epithelial cells under redox status modulation with N-ethylmaleimide (NEM) and 1,4-dithioerythriol (DTE). Modulating the redox status of breast epithelial cells under the effect of NEM and DTE influences the functional activity of glutathione-dependent enzymes, glutaredoxin, thioredoxin, and thioredoxin reductase through changes in the GSH and GSSG concentrations. In HBL-100 cells under redox-status modulation, we have found an increase in the number of cells in the S-phase of the cell cycle and a decrease in the number of cells in the G₀/G₁ and G₂/M phases, as opposed to the values in the intact culture. The proposed model of proliferative activity of cells under redox status modulation may be used for development of new therapeutic approaches for treatment of diseases accompanied by oxidative stress generation.

Key words: thioredoxin, glutaredoxin, glutathione, oxidative stress, proliferation, breast epithelial cells