

УДК 612.67:576.3

ПЕПТИДНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ КАСПАЗА-ЗАВИСИМОГО АПОПТОЗА ПРИ КЛЕТОЧНОМ СТАРЕНИИ

Дудков А.В.

АНО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии», Санкт-Петербург, e-mail: miayu@yandex.ru

Патология сердечно-сосудистой, иммунной, бронхолегочной и выделительной систем является ведущим фактором снижения качества жизни и роста смертности лиц пожилого и старческого возраста. Установлено, что короткие пептиды реализуют свои геропротекторные свойства в отношении указанных выше органов и тканей путем регуляции каспаза-зависимого апоптоза. Эти пептиды уменьшают синтез белков p53, p16, p21 и Caspase-8 при старении клеток в культуре. Пептид EDG способствует уменьшению синтеза маркера каспаза-зависимого апоптоза p16 в культурах клеток бронхиального эпителия при их старении *in vitro*. Дипептиды EW и KE снижают экспрессию белков каспаза-зависимого апоптоза p53, p16, p21 и Caspase-8 в лимфоцитах крови при их старении в культуре и маркера p53 – в «молодых» лимфоцитах крови. Пептиды AED и EDL снижают экспрессию маркеров каспаза-зависимого апоптоза p53, p16, p21 и Caspase-8 в «старых» и маркеров p16, p21 – в «молодых» культурах клеток почек. Трипептид KED уменьшает выраженность экспрессии маркеров каспаза-зависимого апоптоза p53, p16, p21 и Caspase-8 в культурах клеток сосудов при их старении *in vitro*. Полученные данные позволяют объяснить протекторное действие перечисленных пептидов в отношении бронхолегочной, иммунной, выделительной и сердечно-сосудистой систем при их старении.

Ключевые слова: короткие пептиды, апоптоз, клеточное старение

PEPTIDE REGULATION OF CASPASE-DEPENDENT APOPTOSIS IN CELL SENESCENCE

Dudkov A.V.

St. Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, St. Petersburg, e-mail: miayu@yandex.ru

Cardiovascular, immune, bronchopulmonary and excretory systems pathology is the main factor of decreasing life quality and increasing of mortality rate in elderly and old people. It was shown, that short peptides realized its geroprotective properties on these organs and tissues by regulation of caspase-dependent apoptosis. These peptides decreased p53, p16, p21 and Caspase-8 proteins expression during cell senescence. EDG peptide decreased p16 caspase-dependent apoptosis marker in «old» bronchial epithelium cells. EW and KE peptides decreased p53, p16, p21 and Caspase-8 caspase-dependent apoptosis markers in «old», and p53 – in «young» blood lymphocytes. AED and EDL peptides decreased p53, p16, p21 and Caspase-8 caspase-dependent apoptosis markers in «old» and p16, p21 – in «young» renal cell cultures. KED peptide decreased p53, p16, p21 and Caspase-8 caspase-dependent apoptosis markers in «old» vessels cells. Obtained data explains protective effects of these peptides on bronchopulmonary, immune, excretory and cardiovascular systems during its aging.

Keywords: short peptides, apoptosis, cell senescence

В настоящее время все более актуальным становится направление молекулярно-клеточных исследований, изучающее процессы старения организма. Это обусловлено повышением количества людей старших возрастных групп среди населения всего мира. Сердечно-сосудистые заболевания являются основной причиной снижения трудоспособности, инвалидизации и смертности в пожилом возрасте. Другой причиной высокой смертности в пожилом возрасте являются хронические заболевания легких. С возрастом значительно снижается иммунная функция организма, повышается частота развития хронической почечной недостаточности. Все эти ассоциированные с возрастом

заболевания существенно снижают качество жизни лиц пожилого и старческого возраста и являются социально значимыми.

На молекулярно-клеточном уровне нарушения функций сердечно-сосудистой, дыхательной, иммунной и выделительной систем могут проявляться в изменении экспрессии ряда сигнальных молекул и транскрипционных факторов, участвующих в дифференцировке, пролиферации и апоптозе клеток. Темпы возрастной инволюции того или иного органа определяются, в частности, соотношением про- и антиапоптотических белков в клетках [1]. Апоптоз играет важную роль в морфогенетических процессах и регуляции численности клеток. Нарушения апоптотических процессов в различных органах и тканях при старении могут приводить к возникновению патологий, ассоциированных с возрастом, поэтому поиск геропротекторов, способствующих восстановлению баланса пролиферации и апоптоза при старении, является актуальной задачей молекулярной геронтологии.

Ранее были продемонстрированы вазопротекторные свойства пептида KED, заключающиеся в нормализации функций сосудистой стенки. Пептид KED стимулировал функциональную активность культур клеток сосудов при их старении [1, 2]. Пептид EDG снижал воспалительные и бронхоспастические проявления при хроническом бронхите и увеличивал показатели жизненной емкости, общего объема, экспираторной форсированной жизненной емкости легких. Молекулярные аспекты протекторного действия пептида EDG связаны с его способностью повышать функциональную активность клеток бронхиального эпителия [3]. Пептид EW широко применяется в медицине как регулятор клеточного, гуморального иммунитета и неспецифической резистентности организма, а также как стимулятор регенерации и кроветворения [4]. Пептид KE активизирует клеточный иммунитет и неспецифическую резистентность организма [4, 5]. Трипептиды AED и EDL являются протекторными в отношении ткани почек, что установлено у крыс при создании модели нефролитиаза в эксперименте [6]. Было показано, что указанные короткие пептиды уменьшают уровень оксалат-ионов в моче, количество и размер кальциевых отложений в ткани почек, снижают выраженность окислительных процессов [7–9]. В связи с этим цель исследования сформулирована как оценка влияния коротких пептидов на площадь экспрессии молекул-маркеров каспаза-зависимого апоптоза в клетках бронхиального эпителия, лимфоцитов крови, почек и сосудов при их старении в культуре.

Материалы и методы исследования. Для исследования были выбраны линия клеток FLECH, лимфоциты крови человека и первичные культуры клеток почек и сосудов крыс линии Wistar. Клетки линии FLECH были получены из Института цитологии РАН, Российской коллекции клеточных культур. Первичные культуры лимфоцитов крови человека

были предоставлены ФГБНУ «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта». Материал почек и сосудов животных для создания культур клеток забирали из вивария Института физиологии им. И.П. Павлова РАН. Все культуры клеток были разделены на контрольные и экспериментальные группы, как показано в таблице 1.

Таблица 1

Схема деления культур клеток на исследуемые группы

Культура клеток	Группы
Легкое человека, линия FLECH	1 (контроль) – добавление физиологического раствора, 2 – пептид EDG
Лимфоциты крови человека	1 (контроль) – добавление физиологического раствора; 2 – пептид EW; 3 – пептид KE
Почка крысы	1 (контроль) – добавление физиологического раствора, 2 – пептид AED; 3 – пептид EDL
Сосуды крысы	1 (контроль) – добавление физиологического раствора, 2 – пептид KED

Пептид EDG впервые исследовали в модели старения культуры клеток легкого человека линии FLECH, однако ранее эта модель успешно применялась для изучения бронхопротекторных свойств тетрапептида [3]. Пептиды EW и пептид KE также впервые исследовали в модели старения лимфоцитов крови пассажами, однако многочисленные данные об иммуно- и геропротекторных свойствах этих пептидов [4, 5] позволяют предположить, что такая модель будет адекватной для решения поставленной в работе задачи. Ранее было показано, что пептиды AED и EDL при добавлении в «молодые» и «старые» культуры клеток почек крыс линии Wistar в концентрации 20 нг/мл снижали выраженность апоптоза, оцениваемого по экспрессии транскрипционных факторов p16, p21, p53. При этом в другом исследовании на этой же экспериментальной модели пептид EDL не влиял на экспрессию белка p53 [7, 8, 9]. Пептид KED при добавлении в «молодые» и «старые» культуры клеток сосудов крыс линии Wistar в концентрациях 10, 20 и 100 нг/мл повышал экспрессию маркера пролиферации Ki67 и снижал экспрессию проапоптотического белка p53 [1, 2]. Следует отметить, что наибольшее влияние трипептида KED было установлено при использовании концентрации 100 нг/мл.

Итоговая концентрация исследуемых ди- и трипептидов при введении в культуры клеток была равна 100 нг/мл. Такую концентрацию пептидов выбрали потому, что в предыдущих экспериментах при оценке различных типов культур клеток эта концентрация

явилась максимально эффективной. Пересеивание культур клеток осуществляли на 4-е сутки, когда культуры достигали конfluence. Клетки выращивали до 3-го пассажа («молодые» культуры) и до 14-го пассажа («старые» культуры). На этих пассажах их высаживали на планшеты. Затем проводили исследование экспрессии молекул методом иммуноцитохимии. Согласно модели старения клеток *in vitro*, разработанной А.Н. Хохловым, 3-й пассаж принимали за «молодые» культуры, а 14-й пассаж – за «старые» культуры клеток [10]. В работе использовали первичные моноклональные антитела к p16 («Novocastra», 1:100), p21 («Novocastra», 1:50), p53 («Novocastra», 1:50), Caspase-8 («Novocastra», 1:75). На культуры клеток наносили 20–30 мкл первичных антител на 60 мин при 37°C, затем клетки промывали буферным раствором. После этого клетки обрабатывали вторичными антителами, которые конъюгировали с флуорохромом Alexa Fluor 488 (зеленая окраска) или Alexa Fluor 647 (розовая или красно-коричневая окраска) (1:1000, Abcam). Затем клетки промывали буферным раствором и докрашивали ядра Hoechst 33258 в течение 1 мин (голубая флуоресценция). Для исследования каспаза-зависимого апоптоза и клеточного старения нами были выбраны молекулы p53, p16, p21 и Caspase-8.

p53 – маркер каспаза-зависимого апоптоза, транскрипционный фактор, регулирующий клеточный цикл. Активация p53 приводит к остановке клеточного цикла и репликации поврежденной ДНК. Протеин p53 может тормозить клеточный цикл для репарации генома и, кроме этого, может активировать программируемую клеточную гибель. Кроме того, этот транскрипционный фактор регулирует репликативное старение клеток. Под влиянием p53 находится экспрессия ингибиторов циклин-зависимых киназ p16 и p21. Протеин p16 охарактеризован как белок каспаза-зависимого апоптоза, останавливающий клеточный цикл с помощью ингибирования активности циклин-зависимой киназы-2A, участвующей в фосфорилировании протеина pRb. Белок p21 при участии протеина p53 блокирует повреждения ДНК путем инициации репарации. Caspase-8 – иницирующая каспаза при передаче сигнала от всех типов рецепторов клеточной гибели. Показана ключевая роль каспазы-8 в формировании иммунитета в процессе исследования линии трансгенных мышей, имеющих мутацию в гене *CASP8*, приводящую к деактивации каспазы-8. Мутация была ограничена популяцией Т-клеток. У исследуемых мышей наблюдались уменьшение количества периферических Т-лимфоцитов по сравнению с контрольной группой и нарушение реакции Т-клеток на стимулы активации, что приводило к формированию иммунодефицитных состояний [11].

Для того чтобы численно провести оценку данных иммунофлуоресцентной реакции, использовали компьютерный анализ микроскопических изображений. В работе применяли

микроскоп Olympus BX40 с одноименной цифровой камерой, компьютер и программу Видеотест Морфология версии 5.2. Для каждого образца культуры клеток оценивали 10 полей зрения при двухсоткратном увеличении. Для численного анализа рассчитывали площадь экспрессии как отношение площади, занимаемой иммуноположительными клетками, к тотальной площади клеток в поле зрения. После этого показатель выражали в процентах для маркеров с цитоплазматическим окрашиванием и как отношение площади, занимаемой иммуноположительными ядрами, к общей площади ядер в поле зрения для маркеров с ядерной экспрессией. Все данные обрабатывали в программе «Статистика» версии 8.0.

Результаты исследования и их обсуждение

Пептидная регуляция апоптоза в культурах бронхиального эпителия при их старении. Площадь экспрессии p16, p53 статистически значимо ($p < 0,05$) повышалась в контрольной группе «старых» клеток бронхиального эпителия в 5,37 и 1,94 раза в сопоставлении с «молодыми» культурами. В «старых» культурах бронхиального эпителия пептид EDG достоверно снижал экспрессию p16 в 3,02 раза. Площадь экспрессии p21 и Caspase-8 не изменялась во всех исследуемых группах (табл. 2).

Согласно данным литературы повышенная экспрессия маркеров апоптоза в тканях бронхолегочной системы коррелирует с риском возникновения патологий, ассоциированных со старением. Пептид EDG не влияет на каспаза-зависимый апоптоз в «молодых» культурах клеток бронхиального эпителия человека, но снижает экспрессию маркера старения и апоптоза p16 в «старых» культурах ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Таким образом, бронхопротекторный и геропротекторный эффекты пептида EDG могут быть связаны с его способностью регулировать экспрессию транскрипционного фактора p16.

Таблица 2

Площадь экспрессии маркеров апоптоза в культурах клеток бронхиального эпителия

Маркер	Площадь экспрессии, %			
	«Молодые» культуры		«Старые» культуры	
	Контроль	Пептид EDG	Контроль	Пептид EDG
p16	0,27±0,05	0,35±0,07	1,45±0,15*	0,48±0,09**
p21	0,40±0,09	0,35±0,05	0,58±0,16	0,46±0,09
p53	0,32±0,09	0,42±0,08	0,62±0,07*	0,55±0,11
Caspase-8	0,78±0,16	0,55±0,07	1,04±0,23	0,84±0,20

* – $p < 0,05$ по сравнению с контролем в группе «молодых» культур клеток
 ** – $p < 0,05$ в сопоставлении с контролем в группе «старых» культур клеток

Пептидная регуляция апоптоза в культурах лимфоцитов крови при их старении.

Площадь экспрессии p16 в контроле «старых» культур лимфоцитов крови человека статистически значимо ($p < 0,05$) повышалась в 10,10 раза по сравнению с «молодыми» культурами. При добавлении пептидов EW и KE экспрессия протеина p16 в культурах клеток при их старении уменьшалась в 1,43 и 1,22 раза ($p < 0,05$) при сопоставлении с контрольными значениями. Экспрессия транскрипционного фактора p21 в контрольных образцах «старых» культур лимфоцитов возрастала в 7,59 раза ($p < 0,05$) при сопоставлении с «молодыми» клетками. Введение дипептида EW вызывало статистически значимое уменьшение уровня протеина p21 в 1,44 раза ($p < 0,05$) в «старых» культурах клеток в сопоставлении с контролем. Экспрессия протеина p53 в «старых» культурах лимфоцитов повышалась в 7,38 раза ($p < 0,05$) по сравнению с «молодыми» культурами. Введение дипептида EW вызывало снижение синтеза p53 в «молодых» и «старых» культурах в 1,95 и 3,03 раза ($p < 0,05$) в сопоставлении с контролем. Применение дипептида KE способствовало статистически значимому уменьшению синтеза протеина p53 в «молодых» культурах в 2,17 раза и в 1,26 раза – в «старых» культурах лимфоцитов при сопоставлении с контролем. Уровень Caspase-8 в «старых» культурах повышался в 3,96 раза ($p < 0,05$) в сопоставлении с «молодыми» культурами. Экспрессия Caspase-8 в «молодых» культурах клеток не зависела от присутствия или отсутствия в них пептидов. В «старых» культурах клеток под влиянием дипептида EW установлено статистически значимое снижение уровня Caspase-8 в 1,65 раза (табл. 3).

Таблица 3

Площадь экспрессии белков-маркеров апоптоза в культурах лимфоцитов крови

Маркер	Площадь экспрессии, %					
	«Молодые» культуры			«Старые» культуры		
	Контроль	Пептид EW	Пептид KE	Контроль	Пептид EW	Пептид KE
p16	0,31±0,05	0,38±0,06	0,23±0,04	3,12±0,23*	2,18±0,11**	2,55±0,16**
p21	0,29±0,07	0,22±0,04	0,31±0,06	2,20±0,15*	1,53±0,12**	1,97±0,14
p53	0,39±0,06	0,20±0,04**	0,18±0,03**	2,88±0,25*	0,95±0,14**	2,29±0,26
Caspase-8	0,25±0,04	0,25±0,05	0,23±0,04	0,99±0,09*	0,60±0,07**	0,87±0,17

* – $p < 0,05$ по сравнению с контролем в группе «молодых» культур клеток

** – $p < 0,05$ в сопоставлении с контролем в группе «старых» культур клеток

В литературе имеются данные, что при старении клетки иммунной системы становятся менее функционально активными, а уровень апоптотических процессов повышается. Установлено, что пептиды EW и KE снижают экспрессию проапоптотических факторов p16, p21, p53, Caspase-8 в «старых» культурах лимфоцитов крови человека. При этом антиапоптотический эффект пептида EW более выражен по сравнению с пептидом KE. Важно отметить, что изученные дипептиды снижают экспрессию апоптотического маркера p53 в «молодых» культурах лимфоцитов крови человека. Таким образом, иммунопротекторное, противовоспалительное и онкостатическое действие пептидов EW и KE у людей разного возраста может быть связано с их способностью снижать интенсивность каспаза-зависимого апоптоза лимфоцитов крови, оцениваемую по экспрессии маркеров p16, p21, p53, Caspase-8.

Пептидергическая регуляция программируемой клеточной гибели в культурах клеток почек при их старении. В контрольной группе «старых» культур клеток почек уровень протеина p16 был в 3,89 раза выше по сравнению с «молодыми» культурами. Пептид AED статистически значимо снижал этот показатель в «молодых» и «старых» культурах в 1,81 и 1,95 раза ($p < 0,05$) при сопоставлении с контролем. При старении в культурах клеток почек экспрессия p16 под действием пептида EDL снижалась в 1,59 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. В контроле «старых» культур клеток почек площадь экспрессии p21 была в 2,47 раза выше, чем в «молодых» культурах. Добавление пептида AED статистически значимо снижало этот показатель в «молодых» и «старых» культурах соответственно в 2,61 и 2,21 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. При добавлении пептида EDL в «молодых» и «старых» культурах клеток почек наблюдалось снижение экспрессии p21 соответственно в 2,21 и 1,46 раза ($p < 0,05$). В контроле «старых» культур клеток почек площадь экспрессии p53 была в 4,17 раза выше ($p < 0,05$), чем в «молодых» культурах. При старении в культурах клеток почек при добавлении пептида AED экспрессия p53 статистически значимо уменьшалась в 3,24 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. В контроле «старых» культур клеток почек площадь экспрессии Caspase-8 была в 2,44 раза выше ($p < 0,05$), чем в «молодых» культурах. В «старых» культурах экспрессия Caspase-8 под действием пептидов AED и EDL статистически значимо снижалась в 1,49 и 3,00 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контролем (табл. 4).

Таблица 4

Площадь экспрессии маркеров апоптоза в культурах клеток почек

Маркер	Площадь экспрессии, %					
	«Молодые» культуры			«Старые» культуры		
	Контроль	Пептид AED	Пептид EDL	Контроль	Пептид AED	Пептид EDL
p16	0,56±0,09	0,31±0,06**	0,45±0,09	2,18±0,23*	1,12±0,10**	1,37±0,14**
p21	0,86±0,12	0,33±0,07**	0,39±0,11**	2,12±0,14*	0,96±0,13**	1,45±0,12**
p53	0,42±0,07	0,40±0,05	0,45±0,09	1,75±0,16*	0,54±0,10**	1,55±0,18
Caspase-8	0,96±0,14	0,80±0,05	0,94±0,10	2,34±0,20*	1,57±0,16**	0,78±0,06**

* – $p < 0,05$ по сравнению с контролем в группе «молодых» культур клеток

** – $p < 0,05$ в сопоставлении с контролем в группе «старых» культур клеток

По данным литературы интенсивность каспаза-зависимого апоптоза, определяемая по экспрессии p53, повышается при острой почечной недостаточности, причем наиболее интенсивно этот процесс происходит при старении организма [7, 8, 9, 12]. Установлено, что пептиды AED и EDL уменьшают уровень маркеров клеточной гибели p16 и p21, p53, Caspase-8 при старении клеток почек. В предыдущих работах было показано, что пептиды AED и EDL в несколько раз уменьшают синтез протеина p53 в органотипических культурах почек старых крыс [7–9], что продемонстрировано и в данной работе. Исследуемые короткие пептиды уменьшают выраженность синтеза апоптотических маркеров p16 и p21 в «молодых» культурах клеток почек. Вероятно, нефропротекторное действие пептидов AED и EDL, выявленное в моделях почечной недостаточности [6], может быть связано с их антиапоптотическим эффектом, наиболее ярко проявляющимся при старении клеток почек.

Пептидная регуляция апоптоза в культурах клеток сосудов при их старении.

Площадь экспрессии p16 в контроле «старых» культур клеток сосудов в 3,53 раза больше в сопоставлении с «молодыми» культурами. Введение пептида KED в «старые» культуры клеток уменьшало синтез p16 в 2,46 раза ($p < 0,05$) при сопоставлении с контролем. Уровень протеина p21 в контрольной группе «старых» культур клеток сосудов был в 2,17 раза больше в сопоставлении с «молодыми» культурами. При введении пептида KED в «старые» культуры синтез транскрипционного фактора p21 статистически значимо снижался в 1,26 раза при сопоставлении с контролем. Уровень протеина p53 в контроле «старых» культур клеток сосудов был в 1,71 раза ($p < 0,05$) больше при сопоставлении с «молодыми» культурами. Пептид KED уменьшал синтез p53 в «старых» культурах в 1,71 раза ($p < 0,05$) при сопоставлении с контролем. Синтез Caspase-8 в контрольной группе «старых» культур

клеток сосудов был в 1,71 раза больше при сопоставлении с «молодыми» культурами, а пептид KED не оказывал влияния на этот параметр (табл. 5).

Таблица 5

Площадь экспрессии маркеров апоптоза в культурах клеток сосудов

Маркер	Площадь экспрессии, %			
	«Молодые» культуры		«Старые» культуры	
	Контроль	Пептид KED	Контроль	Пептид KED
p16	0,78±0,12	0,70±0,11	2,75±0,34*	1,12±0,10**
p21	0,98±0,16	0,77±0,10	2,13±0,32*	1,69±0,16**
p53	1,18±0,20	1,04±0,09	2,02±0,14*	1,18±0,14**
Caspase-8	0,56±0,07	0,45±0,10	0,96±0,11*	0,90±0,10

* – p<0,05 по сравнению с контролем в группе «молодых» культур клеток

** – p<0,05 в сопоставлении с контролем в группе «старых» культур клеток

Известно, что пептид KED способствует нормализации функций эндотелия при атеросклерозе и старении организма [1, 2]. Поскольку пептид KED снижает выраженность каспаза-зависимого апоптоза, оцениваемого по экспрессии маркеров p16, p21, p53 и Caspase-8, именно в «старых» культурах клеток сосудов, можно предположить, что его геропротекторные и вазопротекторные эффекты связаны с замедлением программируемой клеточной гибели при старении эндотелия.

Заключение. В работе продемонстрирована общая закономерность антиапоптотического действия ди- и трипептидов пептидов при старении клеток различных органов и тканей. Полученные результаты объясняют имеющиеся в литературе данные о геропротекторном и тканеспецифическом действии коротких пептидов, указывая на возможность регуляции программируемой клеточной гибели с помощью бронхопротекторного пептида EDG, иммунопротекторных пептидов EW и KE, нефропротекторных пептидов AED и EDL, DW и вазопротекторного пептида KED.

Несмотря на общность антиапоптотического действия пептидов, мишени действия каждого пептида в апоптотическом каскаде могут различаться. Так, для пептида EDG найден только один маркер-мишень – белок p16, тогда как для пептидов EW и KE мишенями действия являются все 4 изученных апоптотических белка. Таким образом, молекулярно-клеточные механизмы пептидной регуляции каспаза-зависимого апоптоза зависят от типа

клеток, наличия или отсутствия клеточного старения, структуры пептида и требуют дальнейшего детального изучения.

Список литературы

1. Хавинсон В.Х., Линькова Н.С., Елашкина Е.В., Дурнова А.О., Козлов К.Л., Гутоп Е.О. Молекулярные аспекты антиатеросклеротического действия коротких пептидов // Клеточные технологии в биологии и медицине. 2014. № 3. С. 185-189.
2. Китачёв К.В., Сазонов А.Б., Козлов К.Л., Петров К.Ю., Слюсарев А.С., Седова Е.В. Роль вазоактивного пептида в лечении хронической артериальной недостаточности нижних конечностей // Успехи геронтологии. 2013. Т. 26. № 2. С. 292-296.
3. Khavinson V.K., Tendler S.M., Vanyushin B.F., Kasyanenko N.A., Kvetnoy I.M., Linkova N.S., Ashapkin V.V., Polyakova V.O., Basharina V.S., Bernadotte A. Peptide Regulation of Gene Expression and Protein Synthesis in Bronchial Epithelium. *Lung*. 2014. Vol. 192. P. 781-791.
4. Anisimov V.N., Khavinson V.K. Peptide bioregulation of aging: results and prospects. *Biogerontology*. 2010. Vol. 11. P. 139-149.
5. Севостьянова Н.Н., Линькова Н.С., Полякова В.О., Червякова Н.А., Костылев А.В., Дурнова А.О., Кветной И.М., Абдулрагимов Р.И., Хавинсон В.Х. Иммуномодулирующее действие вилона и его аналога в культурах клеток тимуса человека и животных // Клеточные технологии в биологии и медицине. 2012. № 4. С. 220-223.
6. Заморский И.И., Щудрова Т.С., Линькова Н.С., Ничик Т.Е., Хавинсон В.Х. Пептиды восстанавливают функциональное состояние почек при диспластиновой острой почечной недостаточности // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2015. Т. 159. № 6. С. 708-712.
7. Хавинсон В.Х., Линькова Н.С., Полякова В.О., Дурнова А.О., Ничик Т.Е., Кветной И.М. Пептиды регулируют экспрессию сигнальных молекул в клеточных культурах почек при старении *in vitro* // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2014. Т. 157. № 2. С. 227-230.
8. Хавинсон В.Х., Тарновская С.И., Линькова Н.С., Полякова В.О., Дурнова А.О., Ничик Т.Е., Кветной И.М., Дьяконов М.М., Якуцени П.П. Трипептиды замедляют процесс старения в культурах клеток почек // Успехи геронтологии. 2014. Т. 27. № 4. С. 651-656.
9. Чалисова Н.И., Линькова Н.С., Ничик Т.Е., Рыжак А.П., Дудков А.В., Рыжак Г.А. Пептидная регуляция процессов клеточного обновления в культурах тканей почек молодых и старых животных // Клеточные технологии в биологии и медицине. 2015. № 1. С. 10-14.

10. Хохлов А.Н., Клебанов А.А., Кармушаков А.Ф., Шиловский Г.А., Насонов М.М., Моргунова Г.В. Тестирование геропротекторов в экспериментах на клеточных культурах: выбор оптимальной модельной системы // Вестник Московского университета. Серия 16: Биология. 2014. № 1. С. 13-18.
11. Salmena L., Lemmers B., Hakem A., Matysiak-Zablocki E., Murakami K., Au P.Y., Berry D.M., Tamblin L., Shehabeldin A., Migon E., Wakeham A., Bouchard D., Yeh W.C., McGlade J.C., Ohashi P.S., Hakem R. Essential role for caspase-8 in T-cell homeostasis and T-cell-mediated immunity. *Genes Development*. 2003. Vol. 17. no 7. P. 883-895.
12. Clements M.E., Chaber C.J., Ledbetter S.R., Zuk A. Increased cellular senescence and vascular rarefaction exacerbate the progression of kidney fibrosis in aged mice following transient ischemic injury. *PLoS One*. 2013. Vol. 8. no. 8. e70464. DOI:10.1371/journal.pone.0070464.