

## **АНАЛИЗ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ Т-КЛЕТОК И ОКИСЛИТЕЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ ПРИ ИНСУЛЬТЕ**

**Овсепян Л.М., Казарян Г.С., Зангинян А.В., Захарян Г.В.**

*Институт молекулярной биологии Национальной академии наук Республики Армения, Ереван, Армения*

**Резюме.** Проведено исследование уровня экспрессии генов транскрипционных факторов (GATA-3, TBX2, IL-2RG), а также изменения окислительных процессов при ишемическом инсульте.

Обнаружено, что при инсульте наблюдается активирование Th2-клеток (повышение экспрессии транскрипционного фактора GATA-3) и подавление Th1-клеток (понижение экспрессии IL-2 и его рецепторов, а также гена TBX21). Повышение экспрессии транскрипционного фактора GATA-3 у больных инсультом лежит в основе увеличения продукции у этих больных Th2-цитокинов. Сравнительный анализ окисления белков в плазме крови выявил повышение интенсивности окислительной модификации белков у больных инсультом. Исследование содержания глутатиона, активности ферментов глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы в эритроцитах при инсульте обнаружило уменьшение содержания глутатиона и глутатионредуктазы и увеличение активности глутатионпероксидазы.

Полученные данные могут быть полезными для более полного понимания механизмов инсульта.

*Ключевые слова:* инсульт, экспрессия генов, окислительная модификация белков, глутатион

## **ANALYSIS OF THE EXPRESSION LEVEL OF T CELL GENES AND OXIDATIVE PROCESSES IN STROKE**

**Ovsepyan L.M., Kazaryan G.S., Zanginyan A.V., Zakharyan G.V.**

*Institute of Molecular Biology, National Academy of Sciences, Yerevan, Armenia*

**Abstract.** The expression levels of the genes encoding transcription factors (GATA-3, TBX21, IL-2PG), and changes of oxidative processes in ischemic stroke were studied in T cells. We have found a potential activation of Th2 cells (increased expression of transcription factor GATA-3), and suppression of Th1 cells was observed in stroke (a decrease in IL-2 and IL-2 receptors, as well as the TBX21 gene expression,). Increased expression of GATA-3 transcription factor in stroke patients underlies an increased production of Th2-cytokines in these patients.

A comparative analysis of protein oxidation in blood plasma revealed an increase in the intensity of oxidative modification of proteins in stroke patients.

Measurements of glutathione content, activity of erythrocyte glutathione peroxidase and glutathione reductase enzymes in the patients with stroke revealed a decreased content of glutathione and glutathione reductase, along with increased activity of glutathione peroxidase. These findings may be useful for better understanding of pathogenetic mechanisms in brain stroke.

*Keywords:* stroke, gene expression, oxidative modification of protein, glutathione

### **Адрес для переписки:**

*Зангинян Асмик Владимировна  
Институт молекулярной биологии Национальной  
академии наук Республики Армения  
0014, Армения, Ереван, ул. Эзраса Азратяна, 7.  
Тел.: +3749 142-82-29.  
E-mail: hzang@mail.ru*

### **Address for correspondence:**

*Zanginyan Asmik V.  
Institute of Molecular Biology  
0014, Armenia, Yerevan, Ezras Hasratyan str., 7.  
Phone: +3749 142-82-29.  
E-mail: hzang@mail.ru*

### **Образец цитирования:**

*Л.М. Овсепян, Г.С. Казарян, А.В. Зангинян,  
Г.В. Захарян «Анализ уровня экспрессии генов  
Т-клеток и окислительные процессы при инсульте»  
// Медицинская иммунология, 2019. Т. 21, № 2.  
С. 251-256.  
doi: 10.15789/1563-0625-2019-2-251-256  
© Овсепян Л.М. и соавт., 2019*

### **For citation:**

*L.M. Ovsepyan, G.S. Kazaryan, A.V. Zanginyan,  
G.V. Zakharyan "Analysis of the expression level of T cell  
genes and oxidative processes in stroke", Medical Immunology  
(Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2019, Vol. 21, no. 2,  
pp. 251-256. doi: 10.15789/1563-0625-2019-2-251-256*

**DOI:** 10.15789/1563-0625-2019-2-251-256

## Введение

Проблема ишемических поражений головного мозга является одной из наиболее актуальных в современной неврологии. Среди ишемических заболеваний мозга наибольшую значимость представляет инсульт, который является следствием снижения мозгового кровотока, в большинстве случаев вызванного окклюзией мозговых артерий тромбом, в результате которого происходит уменьшение доставки к нейронам необходимого количества глюкозы и кислорода, которые требуются для нормальной функции [1].

Одним из механизмов повреждения нервной ткани при инсульте является воспаление, связанное с утратой иммунного ответа на Т-клеточные рецепторы, сопровождающееся нарушением нейроиммунного гомеостаза мозга и центральной регуляции функций иммунной системы [8, 9].

Процессы пролиферации, дифференцировки и функциональная активность всех иммунокомпетентных клеток находятся под контролем цитокинов, которые в основном продуцируются Th1- и Th2-клетками. Эти Т-хелперы различаются по продуцируемым ими цитокинам и роли в стимулировании развития иммунного ответа по клеточному или гуморальному типу. Нарушение баланса продукции цитокинов Th1/Th2-клетками играет важную роль в иммунопатогенезе [7]. Метаболическое состояние клеток иммунной системы, определяющее уровень продукции активных форм кислорода, является одним из регуляторов Th1/Th2-баланса в организме.

**Целью настоящей работы** явилось исследование уровня экспрессии генов транскрипционных факторов (GATA-3, TBX21), IL-2 и его рецептора IL-2RG, изменения окислительной модификации белка, а также содержания глутатиона и активности ферментов (глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы) при ишемическом инсульте мозга (ИИМ).

## Материалы и методы

Субъектами исследования являлись больные ишемическим инсультом (n = 55) и здоровые

люди (n = 74). Больные ишемическим инсультом находились на лечении в Медицинском центре «Святой Григорий Просветитель» и Республиканском медицинском центре «Армения». Контрольную группу составили доноры медицинского центра «Эребуни» МЗ РА. Исследования были одобрены Комитетом по этике Института молекулярной биологии НАН РА (IRB #00004079).

Средний возраст больных – 72,07±1,5.

У больных кровь бралась в течение первых двух дней после ишемического инсульта. Кровь брали в вакуумные пробирки, содержащие в качестве антикоагулянта ЭДТА. Для выделения лейкоцитов к 5 мл цельной крови добавляли 10 мл лизирующего раствора, включающего в свой состав (155 mM NH<sub>4</sub>Cl, 10 mM KНСО<sub>3</sub> и 0,1 mM Na<sub>2</sub>EDTA, pH = 7).

Полученный осадок лимфоцитов дважды промывали PBS (фосфатно-солевой буфер, pH = 7,4), а затем хранили при -20 °С в растворе, состоящем из 100 мкл RNAlater и 50 мкл PBS.

Выделение РНК из лимфоцитов проводили с использованием коммерческого набора реагентов (“High pure miRNA Isolation Kit”; Roche Applied Science, Германия). Выделенную РНК хранили при -80 °С до обратной транскрипции PCR.

Обратную транскрипцию проводили ПЦР с помощью Transcriptor first strand cDNK synthesis Kit согласно инструкции протокола. Полученные ДНК хранили при -30 °С [5].

RPL32 использовали в качестве контрольного гена для ПЦР в реальном времени. Информация о праймерах представлена в таблице 1.

ПЦР в реальном времени и предварительный анализ полученных результатов были сделаны на системе Rotor Gene 3000 (Corbett Research, Сидней, Австралия).

Для статистической обработки данных использовали программу GraphPad Prizm 5 Demo (<http://www.graphpad.com>). Результаты представлены в виде среднего арифметического ± стандартная ошибка (M±m). При установлении достоверности различий данных использовали t-критерий Стьюдента и U-критерий Манна–Уитни.

ТАБЛИЦА 1. ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ПРАЙМЕРОВ ГЕНОВ PSMB2, IL-2 И IL-2PG, GATA-3

TABLE 1. SEQUENCES OF THE PSMB2, IL-2 AND IL-2PG, GATA-3 GENE PRIMERS

Ген Gene	Правый праймер Right primer	Левый праймер Left primer	Пробы № Probe N	Длина ампликона Length of amplicon
PSMB2	5'-aggtggcagattcaggatg	5'-agagggcagtggaactcctt	#50	<b>72 нуклеотид</b> 72 nucleotide
IL-2	5'-aagtgaaagttttgcttgagc	5'-aggccacagaactgaaacatc	#65	<b>94 нуклеотид</b> 94 nucleotide
IL-2PG	5'-gctgggattcactcagttt	5'-gacagggccacacagatgcta	#50	<b>90 нуклеотид</b> 90 nucleotide
GATA-3	5'-aggtggcagattcaggatg	5'-agagggcagtggaactcctt	#71	<b>68 нуклеотид</b> 68 nucleotide

Значение  $p < 0,05$  рассматривалось как статистически достоверное

Для количественного определения продуктов окислительной модификации белков был применен метод, основанный на реакции взаимодействия окисленных аминокислотных остатков белков и 2,4-динитрофенилгидразина (ДНФГ) с образованием 2,4-динитрофенилгидразонов, количество которых определяли спектрофотометрически. Оптическую плотность образовавшихся карбонильных производных динитрофенилгидразонов регистрировали при разной длине волн: 356 нм – алифатические кетондинитрофенилгидразоны (КДНФГ) нейтрального характера; 370 нм – алифатические альдегиддинитрофенилгидразоны (АДНФГ) нейтрального характера; 430 нм – алифатические КДНФГ основного характера; 530 нм – алифатические АДНФГ основного характера [11]. Уровень карбонильных групп рассчитывали, используя коэффициент молярной экстинкции, равный  $21\ 000\ M^{-1}cm^{-1}$ . Белок определяли по Лоури [12].

Состояние тиол-дисульфидной системы изучали по содержанию глутатиона и активности ферментов – глутатионпероксидазы (ГП) и глутатионредуктазы (ГР) в эритроцитах [6].

## Результаты и обсуждение

Одной из главных предпосылок к активному изучению роли Т-клеток в формировании защиты является их способность синтезировать цитокины. Регуляторами функций лимфоцитов выступают транскрипционные факторы, способные как активировать, так и подавлять деятельность клетки.

Сравнительное изучение уровня экспрессии гена IL-2 в лейкоцитах периферической крови показало, что уровни экспрессии гена IL-2 пони-

жены у больных инсультом по сравнению со здоровыми (рис. 1), что свидетельствует о супрессии его продукции Т-лимфоцитами.

Первоначальным эффектом IL-2 является его взаимодействие с  $CD4^+$  лимфоцитами, что в дальнейшем приводит к формированию клонов Т-хелперов 1 типа. При получении активирующего сигнала в Th1-лимфоцитах начинают экспрессироваться гены IL-2, IFN, TNF $\alpha$ .

IL-2 и его рецептор необходимы для пролиферации Т-клеток, отсутствие одного из них приводит к иммунному дефициту, IL-2 обладает выраженной способностью индуцировать активность практически всех клонов цитотоксических клеток. Он был первым интерлейкином, у которого была выявлена эта способность. IL-2 повышает цитолитическую функцию Т-киллеров и НК-клеток, увеличивает продукцию перфоринов и IFN $\gamma$  этими клетками, активирует моноциты и макрофаги, которые повышают синтез и секрецию TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 [8].

Основными эндогенными продуцентами IL-2 являются активированные Th1  $CD4^+$  лимфоциты, а также цитотоксические  $CD8^+$  лимфоциты. Главное действие, оказываемое им на Т-лимфоциты, – индукция пролиферации в результате преодоления точки рестрикции между фазами цикла G1a и G1b.

Биологическая активность IL-2 возникает (или проявляется) при его связывании со специфическими рецепторами, которые экспрессируются активированными клетками-мишенями на своей мембране.

У-рецептор IL-2 является рецептором многих цитокинов, участвующих в индукции и регуляции иммунного ответа (IL-2, IL-4, IL-7, IL-9).

Результаты исследования показали нарушение генов кодирующих IL-2, IL-2RG при инсульте.

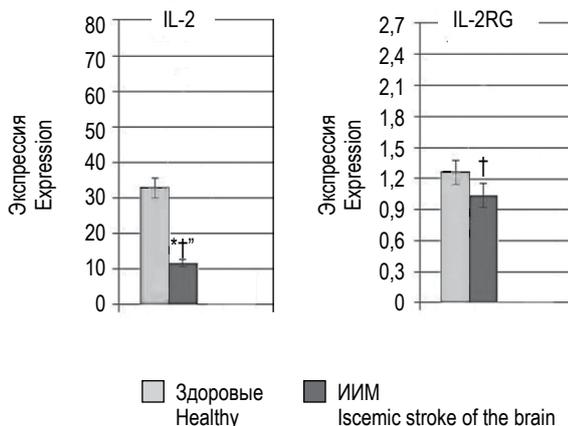


Рисунок 1. Уровень экспрессии IL-2 и IL-2RG у здоровых и больных инсультом

Figure 1. Expression levels of IL-2 and IL-2RG genes in healthy persons and stroke patients

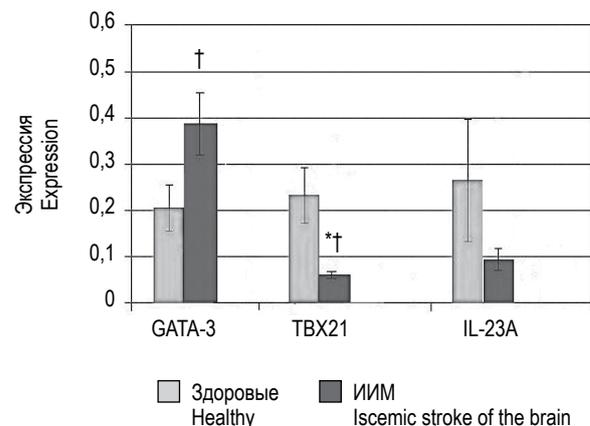


Рисунок 2. Уровень экспрессии GATA-3, TBX21, IL-23A у здоровых и больных инсультом

Figure 2. Expression levels of GATA-3, TBX-21, IL-23A genes in healthy persons and patients with stroke

Результаты оценки экспрессии генов GATA-3 в лимфоцитах показали, что у больных инсультом увеличивается экспрессия GATA-3 по сравнению со здоровыми, усиленная экспрессия GATA-3 индуцирует образование Th2-клеток (рис. 2).

GATA-3 необходим для развития Th2-фенотипа и действует посредством активации секреции соответствующих цитокинов в Th2-клетках (IL-4, IL-5 и IL-13) [4].

Исходя из полученных нами данных, повышение экспрессии GATA-3 приводит к усилению образования Th2-клеток.

Особый интерес вызывает изменение гена TBX21 при инсульте.

Продуктом гена TBX21 являются транскрипционный фактор T-bet. Основная функция T-bet состоит в индукции дифференцировки Th1-клетки и подавления развития Th2-клеток [11]. Основным типом клеток, в которых TBX21 экспрессируется, является разновидность CD4 T-лимфоцитов – Th1-клетки. В Th2-клетках этот ген не экспрессируется.

Известно, что дисбаланс Th1/Th2 приводит к иммунопатологии. Согласно нашим данным, при инсульте наблюдается активирование Th2-клеток (повышение экспрессии транскрипционного фактора GATA-3) и подавление Th1-клеток (понижение экспрессии IL-2 и гена TBX21).

Регуляция экспрессии генов происходит главным образом на уровне транскрипции и определяется составом и активностью белков-активаторов, связывающихся с cis-регуляторными последовательностями ДНК и определяющими скорость инициации транскрипции при взаимодействии с транскрипционным комплексом. Экспрессия многих генов зависит от окислительно-восстановительного потенциала клетки, что обеспечивается нормальным составом белков в клетке и осуществляется редокс-активными белками [2].

Универсальными индукторами изменений редокс-баланса в ответ на стрессорные воздействия выступают активные метаболиты кислорода, а также продукты свободнорадикальных процессов липидов и белков [5].

Исходя из этого, нами было проведено исследование по определению окислительной модификации белков в плазме крови у больных инсультом людей.

Как показали результаты исследования, при инсульте статистически значимо увеличивается уровень алифатических альдегид- и кетон-динитрофенилгидразонов, регистрируемых при длине волн 356, 370, 430, 530 нм. Данный факт свидетельствует об увеличении интенсивности процесса окислительной деструкции белков свободными радикалами (табл. 2).

Фактически все аминокислотные остатки белков способны к окислению, что приводит к изменению их функций. Окислению подвергнутся сульфо- и аминокислотные группы аминокислот, которые могут приводить к образованию поперечных сшивок между белками или между белком и другой молекулой, содержащей NH<sub>2</sub> группу. Наиболее распространенным пусковым механизмом окислительного повреждения мембранных белков является реакция сульфидрильных (SH) групп аминокислот со свободными радикалами. При этом образуются радикалы с локализацией неспаренного электрона около атома серы (-S•), которые затем взаимодействуют друг с другом с образованием дисульфидов.

Результатом окисления аминокислот может быть нарушение вторичной и третичной структуры белков, облегчающее дальнейшее окисление аминокислотных остатков, и денатурация белковых молекул, в результате чего нарушаются их функции, в частности инактивируются ферменты.

Свободные радикалы атакуют белки по всей длине полипептидной цепи, нарушая не только первичную, но и вторичную, и третичную структуру белков, что приводит к агрегации или фрагментации белковой молекулы. Многие ферменты, содержащие SH-группы, такие как АТФазы или дегидрогеназы, легко окисляются в результате свободнорадикальной атаки. В первую очередь воздействию кислородных радикалов подвергаются остатки пролина, гистидина и аргинина, поскольку именно их окисление приводит к снижению содержания восстановленных и повышению уровня окисленных SH-групп. Модификация

**ТАБЛИЦА 2. ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ МОДИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ У ДОНОРОВ И БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ (ед. опт./мг белка) (n = 20)**

TABLE 2. OXIDATIVE MODIFICATION OF PROTEINS IN BLOOD PLASMA IN DONORS AND PATIENTS WITH ISCHEMIC STROKE (units of optical density/ per mg protein) (n = 20)

	Длина волны Wave length			
	356	370	430	530
<b>Контроль</b> Control	13,94±08	16,0±0,6	8,34±0,5	3,15±0,5
<b>Инсульт</b> Stroke	19,72±0,9 p < 0,001	22,93±0,7 p < 0,001	11,25±0,6 p < 0,001	4,45±0,6

фикация белков делает их более чувствительными к протеолизу. Удаление модифицированных белков осуществляется двумя механизмами — с помощью протеасом и протеаз. Увеличение карбонильных белков может быть результатом снижения активности клеточных протеазных систем. Показано, что снижение функции протеасом сопровождается накоплением поврежденных белков. Накопление поврежденных белков указывает на повышение уровня окислительного стресса и на повреждение протеасом клеток, что приводит не только к накоплению поврежденных белков, но и к упадку функциональной активности Т-клеток [14].

Биохимические процессы генной экспрессии — транскрипция на первом этапе (биосинтез молекул информационной или матричной РНК на матрице ДНК) и трансляция на втором этапе (процесс синтеза белка на основе кодовой последовательности нуклеотидов в мРНК) — определяются доступностью АТФ и GTP и в целом сохранностью энергетического метаболизма. Одной из причин развития инсульта является ишемия, в результате которой нарушается доставка кислорода в мозг, что приводит к ряду регуляторных функционально-метаболических изменений в митохондриях, среди которых нарушения состояния митохондриальных ферментных комплексов играют ведущую роль, приводя к активации свободнорадикальных реакций, к падению мембранного потенциала, к нарушению синтеза АТФ и развитию окислительного стресса [1]. Окислительный стресс и/или изменение клеточного редокс-статуса могут влиять на состояние ядерного хроматина и вызывать изменения экспрессии генов [3].

Генерация АФК в дыхательной цепи вызывает повреждение расположенных в непосредственной близости SH-групп тиоловых ферментов и самих мембранных структур, в которых компартиментализована система переноса электронов. В условиях окислительного стресса большое значение имеет антиоксидантная система митохондрий, что обеспечивается находящимися внутри митохондрий антиоксидантами. Одним из основных антиоксидантов в клетках является глутатион. Согласно литературным данным, уменьшение содержания глутатиона приводит к изменению уровня транскрипции в ядре, что может модулировать структурную организацию хроматина [4]. Ядерный глутатион связан с синтезом ДНК, возможно, являясь «редокс-сенсором» для начала процесса синтеза ДНК, поддерживая при этом необходимую архитектуру в ядре за счет оптимального редокс-статуса для репликации ДНК и сохранения ее целостности [10]. Основу клеточного окислительно-восстановительного гомеостаза, с помощью которого может поддерживаться редокс-состояние тиольных групп белков, составляет отношение восстанов-

ленного (GSH) и окисленного (GSSG) глутатиона. Нарушение данного соотношения оказывает существенное влияние с точки зрения редокс-регуляции функционирования белков на процессы сигнальной трансдукции, контроля экспрессии генов, клеточной пролиферации, дифференцировки, состояние клеточного метаболизма и жизнедеятельности клетки в целом.

Как показали результаты исследования, у больных инсультом в эритроцитах наблюдается понижение содержания глутатиона и глутатионредуктазы, при повышении активности глутатионпероксидазы.

Система глутатиона, включающая собственно глутатион, глутатионпероксидазу и глутатионредуктазу, является одним из важнейших компонентов антиоксидантной, антирадикальной защиты клеток. Скорость ее реакции и сродство к гидроперекисям настолько велики, что она может конкурировать за гидроперекиси ненасыщенных жирных кислот, включенные в цепь радикального процесса, ведущего к образованию перекисей, МДА, и благодаря этому выступать в роли своеобразного антиоксиданта. Продукты восстановления перекисей липидов — оксикислоты метаболизируют далее, а окисленный глутатион восстанавливается в GSH — редуктазной реакции глутатиона. По структуре глутатион — это трипептид, состоящий из аминокислот глутамин, цистеина и глицина. Сульфгидридная группа (SH) является основным инструментом глутатиона в реализации антиоксидантного и детоксикационного действия — используется как донор электрона в антиоксидантных реакциях.

Важнейшая роль глутатиона как антиоксиданта объясняется высоким восстановительным потенциалом молекулы и высокой внутриклеточной концентрацией, система глутатиона связывает свободные радикалы, восстанавливает перекиси, а также продукты перекисного окисления липидов, фосфолипидов мембран, белков, нуклеиновых кислот и выводит их из организма в виде нетоксичных конъюгатов глутатиона, обеспечивая нормальное функционирование белков, липидов, нуклеиновых кислот, которые регулируют процессы сигнальной трансдукции, контроля экспрессии генов и состояние клеточного метаболизма.

## Заключение

Таким образом, полученные нами данные, касающиеся изменения экспрессии транскрипционных факторов, показали, что при инсульте имеет место нарушение экспрессии генов в Т-клетках, изменение окислительной модификации белков, а также изменение содержания глутатиона и его ферментов. Полученные данные могут быть полезны для более полного понимания механизмов инсульта.

## Список литературы / References

1. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. М.: Медицина, 2001. 327 с. [Gusev E.I., Skvortsova V.I. Ischemia of the brain]. Moscow: Medicine, 2001. 327 p.
2. Зенков Н.К., Меньшикова Е.Б. Окислительная модификация липопротеинов низкой плотности // Успехи современной биологии, 1996. Т. 116, № 6. С. 286-296. [Zenkov N.K., Menshikova E.B. Oxidative modification of low-density lipoproteins. *Uspekhi sovremennoy biologii = Biology Bulletin Reviews*, 1996, Vol. 116, no. 6, pp. 286-296. (In Russ.)]
3. Калинина Е.В., Чернов Н.Н., Новичкова М.Д. Роль глутатионтрансферазы и глутаредоксина в регуляции редокс-зависимых процессов // Успехи биологической химии, 2014. Т. 54. С. 299-384. [Kalinina E.V., Chernov N.N., Novichkova M.D. The role of glutathione transferase and glutaredoxin in the regulation of redox-dependent processes. *Uspekhi biologicheskoy khimii = Advances in Biological Chemistry*, 2014, Vol. 54, pp. 299-384. (In Russ.)]
4. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Глутатитон ядра клетки и его функции // Биомедицинская химия, 2010. Т. 56, вып. 6. С. 657-662. [Kulinsky V.I., Kolesnichenko L.S. Glutatiton cell nucleus and its functions. *Biomeditsinskaya khimiya = Biomedical Chemistry*, 2010, Vol. 56, issue 6, pp. 657-662. (In Russ.)]
5. Ланкин В.З., Тихазе А.К., Капелько В.И., Шепелькова Г.С., Шумаев К.Б., Панасенко О.М., Коновалова Г.Г., Беленков Ю.Н. Механизмы окислительной модификации липопротеидов низкой плотности при окислительном и карбонильном стрессах // Биохимия, 2007. Т. 72, № 10. С. 1330-1341. [Lankin V.Z., Tikhaze A.K., Kapelko V.I., Shepelkova G.S., Shumayev K.B., Panasenko O.M., Konovalova G.G., Belenkov Yu.N. Mechanisms of oxidative modification of low-density lipoproteins under oxidative and carbonyl stress. *Biokhimiya = Biochemistry*, 2007, Vol. 72, no. 10, pp. 1330-1341. (In Russ.)]
6. Прохорова М.И. Методы биохимических исследований. Л.: Изд-во ЛГУ, 1982. 272 с. [Prokhorova M.I. Methods of biochemical research]. Leningrad: Leningrad State University, 1982. 272 p.
7. Ярилин А.А. Иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. 752 с. [Yarilin A.A. Immunology]. Moscow: GEOTAR-Media, 2010. 752 p.
8. Brait V.H., Arumugam T.V., Drummond G.R., Sobey C.G. Importance of T lymphocytes in brain injury, immunodeficiency, and recovery after cerebral ischemia. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 2012, Vol. 32, no. 4, pp. 598-611.
9. Chamorro A., Meisel A., Planas A.M., Urra X., van de Beek D., Veltkamp R. The immunology of acute stroke. *Nat. Rev. Neurol.*, 2012, Vol. 8, no. 7, pp. 401-410.
10. Fratelli M., Goodwin L.O., Ørom U.A., Lombardi S., Tonelli R., Mengozzi M., Ghezzi P. Gene expression profiling reveals a signaling role of glutathione in redox regulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005, Vol. 10, no. 39, pp. 13998-14003.
11. Levine R.L., Garland D., Oliver C.N. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Meth. Enzymol.*, 1990, Vol. 186, pp. 464-478.
12. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 1951, Vol. 193, no. 1, pp. 265-275.
13. Overholtzer M., Brugge J.S. The cell biology of cell-in-cell structures. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2008, Vol. 9, no. 10, pp. 796-809.
14. Ponnappan S., Ova H., Ponnappan U. Lower expression of catalytic and structural subunits of the proteasome contributes to decreased proteolysis in peripheral blood T lymphocytes during aging. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2007, Vol. 39, no. 4, pp. 799-809.
15. Szabo S.J., Kim S.T., Costa G.L., Zhang X., Fathman C.G., Glimcher L.H. A novel transcription factor, T-bet, directs Th1 lineage commitment. *Cell*, 2000, Vol. 100, no. 6, pp. 655-669.

---

### Авторы:

**Овсепян Л.М.** — к.б.н., ведущий научный сотрудник, руководитель лаборатории молекулярной мембранологии, Институт молекулярной биологии Национальной академии наук Республики Армения, Ереван, Армения

**Казарян Г.С.** — к.б.н., научный сотрудник лаборатории молекулярной мембранологии, Институт молекулярной биологии Национальной академии наук Республики Армения, Ереван, Армения

**Зангинян А.В.** — к.б.н., научный сотрудник лаборатории молекулярной мембранологии, Институт молекулярной биологии Национальной академии наук Республики Армения, Ереван, Армения

**Захарян Г.В.** — к.б.н., научный сотрудник лаборатории молекулярной мембранологии, Институт молекулярной биологии Национальной академии наук Республики Армения, Ереван, Армения

---

### Authors:

**Ovsepyan L.M.**, PhD (Biology), Leading Research Associate, Laboratory of Molecular Membranology, Institute of Molecular Biology, National Academy of Sciences, Yerevan, Armenia

**Kazaryan G.S.**, PhD (Biology), Research Associate, Laboratory of Molecular Membranology, Institute of Molecular Biology, National Academy of Sciences, Yerevan, Armenia

**Zanginyan A.V.**, PhD (Biology), Research Associate, Laboratory of Molecular Membranology, Institute of Molecular Biology, National Academy of Sciences, Yerevan, Armenia

**Zakharyan G.V.**, PhD (Biology), Research Associate, Laboratory of Molecular Membranology, Institute of Molecular Biology, National Academy of Sciences, Yerevan, Armenia

---

Поступила 06.06.2018

Отправлена на доработку 29.06.2018

Принята к печати 20.09.2018

---

Received 06.06.2018

Revision received 29.06.2018

Accepted 20.09.2018