

Виноградова О.П.¹, Артемова О.И.²

Патогенетические аспекты изменения апоптотической программы при ВПЧ-ассоциированных патологиях шейки матки

1 - Филиал ГБОУ ДПО « Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» МЗ РФ, 2 - ФГБОУ ВО « Пензенский государственный университет» Медицинский институт

Vinogradova O.P., Artemova O.I.

Pathogenic aspects of apoptotic program change during HPV-associated pathologies of cervix

Резюме

К прогрессии злокачественных изменений могут приводить сбои в апоптотической программе. процесс апоптоза может идти по двум путям-внутреннему и внешнему. Оба этих пути являются каспаз-зависимыми. Повреждение ДНК при проникновении ВПЧ запускает каскад каспазных реакций. При формировании лейкоплакии шейки матки, дисплазии 1 степени или дисплазии 2 степени на фоне ПВИ происходит нарушение апоптотической программы.

Ключевые слова: Апоптоз. Биологические мембраны. Рак шейки матки. Вирус папилломы человека.

Summary

The failures of apoptotic program can lead to progression of malignant changes. The process of apoptosis may go by to ways – internal and external. Both of these paths are caspase-dependent. The DNA damage starts the cascade of caspase reaction during the HPV invasion. The violation of apoptotic program appears during the leukoplakia forming in the cervix, the 1st grade dysplasia or the 2nd grade dysplasia during PVI

Key words: Apoptosis, Biological membranes, Cervical cancer, Human papilloma virus

Введение

Апоптоз представляет собой особую, генетически запрограммированную, форму гибели клетки и является необходимым условием нормального существования организма [1, 2, 3, 4, 5]. Назначение этого процесса состоит в поддержании постоянства численности клеток, обеспечении правильного соотношения клеток различных типов и удалении генетически дефектных клеток [6, 7, 8, 9]. Структурная целостность биологических мембран в ходе апоптоза не нарушается, что предупреждает выход содержимого цитоплазмы (в том числе лизосомальных ферментов) во внеклеточную среду [10, 11, 12] и развитие воспалительного процесса [13, 14]. В организмах многоклеточных процесс апоптоза участвует в дифференцировке и морфогенезе [15, 16, 17]. При благоприятном течении патологии возможна гибель поврежденных клеток вследствие активации рецептор-зависимой запрограммированной гибели клеток [21, 22], чтобы не дать вирусу возможность дальнейшего распространения. Исходя из этого, некоторые типы вирусов, например ВПЧ, получают возможность внедрения в нормально текущий процесс и способность нарушать и предотвращать апоптоз [21, 22]. Сбои в апоптотической программе могут приводить к прогрессии

злокачественных изменений. Клетки с нарушенным апоптозом перестают реагировать на сигналы иммунной системы, продолжая свою пролиферацию [17, 21].

Нормальный процесс апоптотической гибели клетки, как правило, происходит без макроскопических признаков, структурных и функциональных дефектов ткани [15, 16, 17]. Одним из триггеров для апоптоза является внедрение вируса папилломы человека [3, 18, 19] - ведущего этиологического фактора возникновения рака шейки матки [9, 13]. Современный этап развития медицины характеризуется изучением механизмов возникновения изменений при апоптозе на молекулярном уровне [14, 18]. Однако до конца не определены аспекты взаимосвязей между нарушением апоптотической программы и возникновением изменений, приводящих к атипии [19, 20, 21]. Исходя из вышесказанного целью работы явилось изучение патогенетических аспектов апоптотических изменений, по средствам оценки уровня каспазы 3 и каспазы 9 при ВПЧ – ассоциированных патологиях шейки матки.

Материалы и методы

В работе с пациентами соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией

ВМА «Этические принципы научных и медицинских исследований с участием человека» (с поправками 2008 г.), «Правилами клинической практики в Российской Федерации» (Приказ Министерства здравоохранения и социального развития РФ № 266 от 19.06.2003), Национальным стандартом РФ «Надлежащая клиническая практика» (2005).

В исследовании приняли участие ВПЧ - положительные пациентки фертильного возраста с гистологически подтвержденными диагнозами: лейкоплакия шейки матки, дисплазия 1 степени или дисплазия 2 степени. К моменту начала исследования пациентки были пролечены от инфекций, передаваемых половым путем. Так же, пациентки не получали терапию препаратами, с возможным влиянием на исследуемые показатели за последние 7 месяцев до начала исследования.

Критериями исключения из исследования были: возрастной интервал до 18 и старше 45 лет, пациентки с положительным тестом на беременность, с тяжелой соматической патологией, принимавшие лекарственные препараты, влияющие на исследуемые показатели и не имеющие возможности следовать условиям протокола.

В исследовании приняли участие 175 женщин фертильного возраста от 18 до 45 лет: I группу составили 60 пациенток с лейкоплакией шейки матки, ассоциированной с вирусом папилломы человека;

II группу - 40 женщин с дисплазией 1 степени, ассоциированной с вирусом папилломы человека;

III группу - 35 пациенток с дисплазией 2 степени, ассоциированной с ВПЧ. Группа контроля представлена 40 здоровыми женщинами, которые обратились для профилактического осмотра.

Внутри групп исследования пациентки не различались между собой по основным параметрам: росту, весу, индексу массы тела, что позволило объединить их для анализа согласно цели исследования, считая выборку однородной.

Распределение исследуемых по возрасту представлено в таблице 1

Сравнительный анализ возраста в исследуемых группах выявил преобладание возрастного интервала 41 - 45 лет, что свидетельствует о длительной персистенции вируса в эпителии шейки матки с начала половой жизни до появления клинических изменений. В ходе исследования определено, что чем старше возраст пациентки, тем чаще диагностировалась более тяжелая форма патологии цервикальной зоны.

Средний возраст пациенток в I группе составил

20,6±3,45 лет, во II группе 26,3 ± 4,75 лет и в III группе, соответственно, 32,4 ±3,5 лет, а в группе контроля средний возраст в составил 24,4±2,65 лет. Таким образом, ВПЧ-ассоциированные патологии шейки матки наиболее часто встречались среди молодых женщин.

Клинико-лабораторный этап исследования включал в себя проведение кольпоскопии, цитологического и гистологического обследования. Также было проведено ВПЧ - типирование и определение уровня каспазы 3 и каспазы 9 методом ИФА.

После анализа цитологического заключения, результатов расширенной кольпоскопии и определения наличия ВПЧ была проведена прицельная мультифокусная биопсия шейки матки (МБШМ).

Материал забирался из наиболее подозрительных участков шейки матки по результатам расширенной кольпоскопии. Исследовались биоптаты пораженных участков шейки матки, по завершении гистологического метода исследования полученные образцы оценивались по классификации ВОЗ от 2014 года.

В исследование были включены пациентки с гистологически подтвержденными результатами лейкоплакия, дисплазия 1 и 2 степеней.

С целью изучения патофизиологических процессов, происходящих в структуре эпителия шейки матки под действием вируса папилломы человека, проводилось определение уровня каспазы 1, каспазы 3 и каспазы 9. Учитывая отсутствие параметров нормы для данных показателей, были исследованы женщины группы контроля, обратившиеся для профилактического осмотра, не имеющие атипических изменений на шейке матки, с цитологическим заключением « норма» и ВПЧ отрицательные.

Содержание каспазы 1, каспазы 3 и каспазы 9 определяли по средствам ИФА - диагностики. Для этого полученный материал из цервикального канала с помощью урогенитального одноразового стерильного зонда (тип D «Цитошетка») помещали в фосфатно-солевой буферный раствор и доставляли в лабораторию для дальнейшей обработки. Для определения уровня исследуемых каспаз использовался набор реагентов компании Cloud.Clone согр., предназначенный для количественного определения CASP3 и CASP9 сэндвич-методом ИФА в гомогенатах тканей, клеточных лизатах, супернатантах клеточных культур и других биологических жидкостях человека. Все реагенты хранились в соответствии с маркировкой на флаконах.

Оценку статистических показателей проводили с использованием методов оценки и с применением программы «STATISTICA» 6.0. Также в ходе обработки

Таблица 1. Распределение обследуемых пациенток по возрасту

Возрастная группа/ лет	18-20	21-25	26-30	31-35 лет	36-40 лет	41-45 лет
Кол-во пациенток (%)	26 (14,8)	26 (14,8)	28 (16)	32 (18,3)	28(16)	35 (20)
I группа, (%)	17 (12,9)	8 (5,9)	7 (5,1)	9 (6,6)	7 (5,1)	12 (8,9)
II группа, (%)	2 (1,4)	7 (5,1)	5 (4,4)	8 (5,9)	8 (5,9)	9 (6,6)
III группа, (%)	0 (0)	5 (4,4)	7 (5,1)	5 (4,4)	8 (5,9)	8 (5,9)
Группа контроля	7 (5,1)	5 (3,1)	8 (5,9)	9 (6,6)	5 (3,1)	5 (4,4)

полученных данных использовалась описательная статистика. При проведении оценки статистических показателей применялся метод Фишера - метод углового преобразования. Разница между сравниваемыми данными считалась достоверной при $P > 0,05$.

Результаты и обсуждение

В ходе исследования установлено, что в сформированных группах определялось сочетание нескольких высокоонкогенных типов ВПЧ, иногда в сочетании с низкоонкогенными (рисунок 1).

Кроме этого была проведена оценка вирусной на-

грузки 16,18, 31,33 и 51 типов ВПЧ (таблица 2).

В таблице 2 отображена вирусная нагрузка у наиболее часто встречающихся типов ВПЧ, исходя из которой (анализируя полученные результаты) можно сделать вывод, что в развитии патологических процессов на шейке матки с возможным дальнейшим развитием онкологической патологии цервикальной зоны принимают участие высокоонкогенные типы ВПЧ. При этом очевидно, что прогрессирование данного процесса требует сочетание нескольких типов и высокая вирусная нагрузка. Анализ полученных данных о наиболее распространенных типах ВПЧ по Пензенской области соотносится с данными

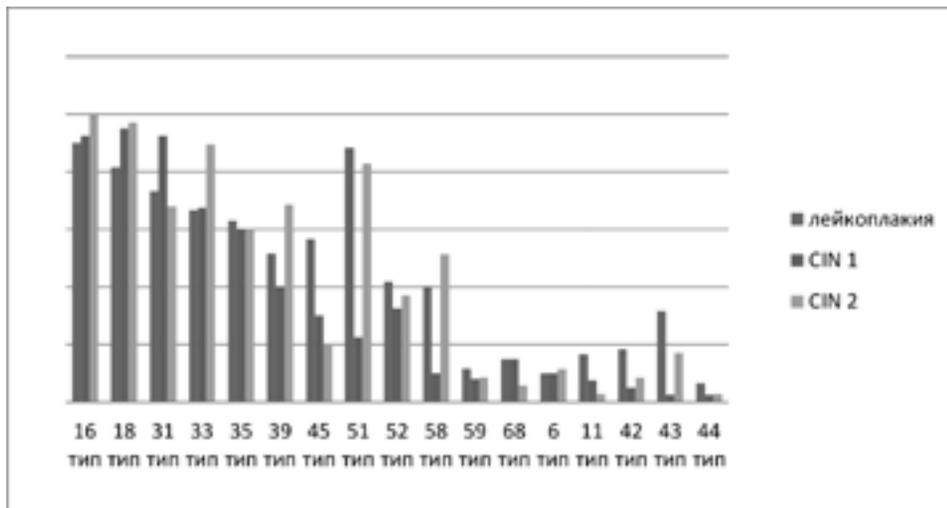


Рисунок 1 Частота встречаемости ВПЧ высокого и низкого канцерогенного риска в исследуемых группах, %

Таблица 2. Распределение вирусной нагрузки при наиболее частовстречающихся типах вируса

Тип вируса	16 тип	18 тип	31 тип	33 тип	51 тип
Вирусная нагрузка	> 5 lg				
Лейкоплакия, %	83	68	56	53,4	82
CIN I, %	76	87	32	35,6	67
CIN II, %	75,1	92	35	24,5	78

Таблица 3. Результаты гистологического исследования

Патология	Абсолютные числа	Относительные числа, %
Лейкоплакия	50	44,4
Дисплазия 1	40	29,63
Дисплазия 2	35	25,92

Таблица 4. Уровень каспазы 1 в исследуемых группах

Название группы	Caspase 1
Контроль	0,060
Лейкоплакия	0,059
CIN 1	0,061
CIN 2	0,058

Таблица 5. Значения каспазы 9 в группах исследования

Группа исследование	Caspase 3
Группа контроля	0,213± 0,04*
Лейкоплакия шейки матки	0,891±0,03*
CIN I	2,54± 0,04*
CIN II	2,96±0,05*

Примечание: Оценка статистической достоверности изменений активности каспазы 9 проводилась в соответствии с критериями Уилкоксона-Манна-Уитни. Символом * маркерваны группы, в которых активность каспазы достоверно отличается от группы иммунологического «контроля» (различия полагаются достоверными с $p < 0,05$).

Таблица 6. Значения каспазы 3 в группах исследования

Группа исследование	Caspase 3
Группа контроля	0,179 ±0,03*
Лейкоплакия шейки матки	0,894 ± 0,04*
CIN I	2,452 ±0,05*
CIN II	2,971 ± 0,04*

Примечание: Оценка статистической достоверности изменений активности каспазы 9 проводилась в соответствии с критериями Уилкоксона-Манна-Уитни. Символом * маркерваны группы, в которых активность каспазы достоверно отличается от группы иммунологического «контроля» (различия полагаются достоверными с $p < 0,05$).

Таблица 7. Доверительные интервалы для групп исследования

Название группы	Каспаза 3	Каспаза 9
Контроль	0,061-0,848	0,104-0,521
Лейкоплакия	0,892-1,753	0,598-1,894
CIN 1	1,884-2,64	1,912-2,701
CIN 2	2,73-3,249	2,786-3,004

исследований по другим регионам РФ [17, 18].

Всем пациенткам из I, II, III групп было проведено гистологическое исследование, на основании которого были сформированы группы исследования (таблица 3).

Следующим этапом работы была оценка выраженности нарушений процесса апоптоза при изменениях цервикальной зоны под действием вируса папилломы человека посредством оценки уровня каспазы 1, каспазы 3 и каспазы 9.

Ввиду отсутствия нормальных значений для каспазы 1, каспазы 3 и каспазы 9, за показатели нормы были приняты результаты группы контроля.

При определении уровня каспазы 1 в группах исследования были получены следующие результаты (таблица 4).

При определении уровня каспазы 1 в группе контроля и в группах исследования полученные результаты находились на пределе чувствительности метода, что свидетельствует об отсутствии воспалительной реакции в эпителии шейки матки, индуцированной ВПЧ, так как каспаза 1 играет центральную роль в клеточном иммунитете [11, 12, 14, 17] в качестве инициатора воспалительного ответа. При активации данной каспазы 1 посредством образования комплекса воспаления она инициирует провоспалительный ответ через расщепление и, таким образом,

активацию двух воспалительных цитокинов, интерлейкина 1β и интерлейкина 18, а также пироптоза, запрограммированного литического пути смерти клетки [11, 14, 21]. После чего, происходит выход цитокинов из клетки, чтобы дополнительно индуцировать воспалительный ответ в соседних клетках [14].

Следующим этапом было определение уровня каспазы 9. По средствам ИФА диагностики были получены значения, которые коррелируют с прогрессией ПВИ в эпителиальных клетках цервикальной зоны (таблица 5).

Как видно из таблицы 5 в группах исследования активность каспазы 9 была выше относительно уровня контроля и увеличивалась по мере прогрессии патологии шейки матки на фоне вирусной инфекции. Данные результаты подтверждают становление апоптоз-резистентного процесса в клетках [9, 11, 12, 21], пораженных вирусом папилломы человека, обусловленного активацией каспазных генов в измененных участках цервикальной зоны.

Нарушение процесса программированной гибели клетки является основным при формировании атипических изменений [13, 19, 20]. Основными ферментами, которые участвуют в апоптозе являются каспазы. Они

подразделяются на инициаторные и эффекторные [16, 21, 22]. Запуск инициаторных каспаз, к которым относится 9 каспаза, происходит в составе макромолекулярных белковых комплексов. Их формирование осуществляется в клетке в ответ на внешние или внутренние триггеры, например повреждения ДНК при проникновении ВПЧ [21, 23, 24]. То есть, первоначально в клетках каспаза 9 присутствует в форме неактивных мономерных предшественников [16], для активации которых требуется расщепление проэнзима и последующая димеризация. Осуществление этих реакций возможно при последовательной активации друг другом каспаз [24, 25].

Активация каспазы 9 происходит при митохондриальном сигнальном пути за счет выхода апоптотических белков в цитоплазму через высокопроницаемые каналы на внешней поверхности митохондрий [21, 26]. После чего в цитоплазме клетки оказывается цитохром С, который связывается с фактором, индуцирующим апоптоз, и обеспечивает доступность домена для связывания предшественника каспазы 9-прокаспазы 9 [23, 24]. В составе образовавшегося комплекса происходит ауто-протеолиз и последующая активация каспазы 9. Клетки, лишенные цитохрома с, не способны активировать каспазы после индукции апоптоза по митохондриальному пути, то есть дальше возможен только внешний путь активации [26, 27].

Таким образом, по мере прогрессирования ВПЧ-ассоциированной патологии шейки матки имеет место увеличение уровня инициаторной каспазы 9. Это говорит, о том, что процесс апоптоза при лейкоплакии шейки матки, дисплазии 1 степени или дисплазии 2 степени при внедрении ПВИ осуществляется за счет внутреннего митохондриального пути.

После определения уровня инициаторной каспазы 9, был определен уровень эффекторной каспазы 3 в группах исследования (таблица 6).

Каспаза 3 первоначально находится в неактивном состоянии, для выхода из которого нужно протеолитическое расщепление по остаткам аспаратов (это осуществляют каспазы 8 и 9) [14, 21, 28]. Внешний путь (рецепторный) активируется при связывании лиганда с рецептором смерти на поверхности клетки. Активированные рецепторы взаимодействуют с соответствующими внутриклеточными адаптерами [17, 21]. Это инициирует путь, который приводит к активации каспаз с помощью мембранных белков-посредников. При образовании комплекса лиганд-рецептор-адаптер [24, 27], он вступает во взаимодействие с эффекторами — прокаспазами. Таким образом формируются агрегаты, в которых происходит активация каспаз, — апоптосомы или сигнальные комплексы, индуцирующие смерть [16, 21, 25]. После чего запускается молекулярный каскад, финальным этапом которого становится активация эффекторной каспазы 3. По мере прогрессии ВПЧ-ассоциированной патологии шейки матки определяется повышение уровня эффекторной каспазы 3, что свидетельствует об активации апоптотической программы по

внешнему пути.

Таким образом, уровень экспрессии каспазы 3 и каспазы 9 участвующих в апоптозе дает возможность рассмотреть их использование в качестве молекулярных маркеров.

Следующим этапом работы были определены доверительные интервалы внутри каждой группы (таблица 7).

Изучение апоптоза характеризуется описанием молекулярных маркеров, вовлеченных в клеточную гибель: индукторов, рецепторов, посредников, эффекторов. На данный момент открыты десятки молекул, участвующих в апоптозе, но функции многих из них изучены недостаточно.

В организмах многоклеточных процесс апоптоза участвует в дифференцировке и морфогенезе [16, 19, 21]. Процесс программированной гибели клеток является основным для избавления от дефектных клеток [17, 19, 20]. При благоприятном течении патологии возможна гибель поврежденных клеток вследствие активации рецептор-зависимой программированной гибели клеток [21, 22], чтобы не дать вирусу возможность дальнейшего распространения. Исходя из этого, некоторые типы вирусов, например ВПЧ, получают возможность внедрения в нормально текущий процесс и способность нарушать и предотвращать апоптоз [21, 22].

Сбои в апоптотической программе могут приводить к прогрессии злокачественных изменений. Клетки с нарушенным апоптозом перестают реагировать на сигналы иммунной системы, продолжая свою пролиферацию [17, 21]. Сам процесс апоптоза может идти по двум путям-внутреннему и внешнему. Оба этих пути являются каспаз-зависимыми [16, 18, 23]. Одним из ключевых звеньев внутреннего, митохондриального, пути является каспаза 9, которую активируют ее предшественники после повреждения ДНК клетки [14, 15, 16]. Эффекторная каспаза 3 сначала находится в клетке в неактивном состоянии, и для ее активации необходим триггер, например, внедрение ПВИ и его распространение. Пусковым моментом к таким преобразованиям является повреждение ДНК при проникновении ВПЧ, которая в свою очередь запускает каскад каспазных реакций [20-22]. Сам каспаз-зависимый путь апоптоза может быть митохондриальным или рецепторным, но всегда его итоговой точкой будет активация каспазы 3. Данная каспаза 3 относится к апоптотическим каспазам и является эффекторной [14, 16, 19], которая в свою очередь запускает процесс протеолиза более 70 жизненно важных для функционирования клетки белковых субстратов, что в конечном итоге приводит к деградации ДНК, гибели пораженной клетки и формированию «апоптотических тел» [14, 17, 21, 22], которые фагоцитируются различными пулами лимфоцитов. Апоптоз является ключевым механизмом иммунорегуляции, а его нарушения имеют патогенетическую значимость в развитии многих заболеваний. Степень выраженности активности каспазы 3 и каспазы 9 варьируется в зависимости от диагностированной ВПЧ-зависимой патологии шейки матки [14, 16, 22]. В ходе проведенного исследования были определены доверительные интервалы каспазы 3 и каспазы 9 для ВПЧ-ассоциированных лейкопла-

кии шейки матки, дисплазии 1 степени или дисплазии 2 степени.

Таким образом, при формировании лейкоплакии шейки матки, дисплазии 1 степени или дисплазии 2 степени на фоне ПВИ происходит нарушение апоптотической программы. Результаты определения каспазы 3 и каспазы 9 показали различные значения с группой контроля в уровне экспрессии маркера апоптоза в эпителии шейки матки по мере прогрессирования ВПЧ - ассоциированной патологии. ■

Виноградова Ольга Павловна, доктор медицинских наук, профессор Филиал ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» МЗ Российской Федерации. **Артемova Ольга Игоревна**, Ассистент кафедры «Акушерство и гинекология», ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет» Медицинский институт. Автор, ответственный за переписку: Виноградова Ольга Павловна E-mail: artyomovaolg@gmail.com

Литература:

1. Ciavattini, A. Follow up in women with biopsy diagnosis of cervical low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL): how long should it be? / A. Ciavattini, N. Clemente, D. Tsiroglou, F. Sopracordevole, M. Serri, G. Delli Carpini et al. // Arch. Gynecol. Obstet. – 2017. – Т. 295, No. 4. – P. 997-1003.
2. Tranberg, M. Study protocol of the CHOICE trial: a three-armed, randomized, controlled trial of home-based HPV self-sampling for non-participants in an organized cervical cancer screening program / M. Tranberg, B.H. Bech, J. Blaakaer, J.S. Jensen, H. Svanholm, B. Andersen // BMC Cancer. – 2016. – Т. 16. – N 1. – P. 835.
3. Кадагидзе З.Г., Черткова А.И. Иммунная система и рак// Практическая онкология.-2016.-Т.17.-№2.-с.62-73.
4. Teimoori B, Yazdi A, Rezaei M, Mohammadpour-Gharehbagh A, Jahantigh D, Salimi S. J Cell Biochem. 2018 Aug;119(8):6756-6764. doi: 10.1002/jcb.26869. Epub 2018 May 8.
5. Massad, L.S. 2012 ASCCP Consensus Guidelines Conference. 2012 Updated consensus guidelines for the management of abnormal cervical cancer screening tests and cancer precursors / L.S. Massad, M.H. Einstein, W.K. Huh, H.A. Katki, W.K. Kinney, M. Schiffman // J. Lower Genit. Tract Dis. – 2013. – V. 17 (5, Suppl. 1). – P. 1-
6. Teng M.W., Galon J., Fridman W.H., Smyth M.J. From mice to humans: developments in cancer immunoediting // J Clin Invest. – 2015. – Vol. 125, No. 9. – P. 3338–3346
7. Zehbe, I. Community-randomised controlled trial embedded in the Anishinaabek Cervical Cancer Screening Study: human papillomavirus selfsampling versus Papanicolaou cytology / I. Zehbe, R. Jackson, B. Wood, B. Weaver, N. Escott, A. Severini // BMJ Open. – 2016. – Т. 6. – N 10. – P. 117-154.
8. Wong, E.L.Y. Evaluation of the impact of human papillomavirus DNA selfsampling on the Uptake of Cervical Cancer Screening / E.L.Y. Wong, K.S. Chan Paul, J.S.Y. Chor, A.W.L. Cheung, F. Huang, S.Y.S. Wong // Cancer Nurs. – 2016. – Т. 39. – N 1. – P. 1-11.
9. Taniguchi M., Harada M., Dashtsoodol N., Kojo S. Discovery of NKT cells and development of NKT cell-targeted anti-tumor immunotherapy // Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci. – 2015. – Vol. 91, No. 7. – P. – 292–304.
10. А. С. Дятлова, А. В. Дудков, Н. С. Линькова, В. Х. Хавинсон, Молекулярные маркеры каспаза-зависимого и митохондриального апоптоза: роль в развитии патологии и в процессах клеточного старения. Успехи современной биологии, 2018, том 138, № 2, с. 126–137)
11. Eleftheriadis T, Pissas G., Antoniadis G. et al. Malate dehydrogenase-2 inhibitor LW6 promotes metabolic adaptations and reduces proliferation and apoptosis in activated human T-cells // Exp. Ther. Med. 2015. No 10 (5). P. 1959–1966; Hangen E. Interaction between AIF and CHCHD4 regulates respiratory chain biogenesis // Mol. Cell. 2015. No 58. P. 10 01–1014
12. Jorgensen I, Miao EA (May 2015). “Pyroptotic cell death defends against intracellular pathogens”. Immunological Reviews. 265 (1): 130–42. DOI:10.1111/imr.12287. PMC 4400865. PMID 25879289.
13. Bakele M, Joos M, Burdi S, Allgaier N, Pöschel S, Fehrenbacher B, Schaller M, Marcos V, Kümmerle-Deschner J, Rieber N, Borregaard N, Yazdi A, Hector A, Hartl D (February 2014). “Localization and functionality of the inflammasome in neutrophils”. The Journal of Biological Chemistry. 289 (8): 5320–9. DOI:10.1074/jbc.M113.505636. PMC 3931087. PMID 24398679.
14. Kumaresan V, Ravichandran G, Nizam F, Dhayanithi NB, Arasu MV, Al-Dhabi NA, Harikrishnan R, Arockiaraj J (February 2016). “Multifunctional murrel caspase 1, 2, 3, 8 and 9: Conservation, uniqueness and their pathogen-induced expression pattern”. Fish & Shellfish Immunology. 49: 493–504. DOI:10.1016/j.fsi.2016.01.008. PMID 26777895.
15. Vince JE, Silke J (2016). “The intersection of cell death and inflammasome activation”. Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS. 73 (11–12): 2349–67. DOI:10.1007/s00018-016-2205-2. PMID 27066895.
16. Рыжов С.В., Новиков В.В. Молекулярные механизмы апоптотических процессов // Рос. биотерап. ж. 2002. № 3. м. 1. С. 27–33;
17. Giannotta M., Fragassi G., Tamburro A. et al. Prohibitin: a novel molecular player in KDEL receptor signalling // BioMed Res. Int. 2015. Art. ID 31945; Farina B., Di Sorbo G., Chambery A. et al. Structural and biochemical insights of CypA and AIF interaction // Sci. Rep. 2017. No 7 (1). P. 1138–1145

18. Creagh E.M. Caspase crosstalk: integration of apoptotic and innate immune signalling pathways // *Tren. Immunol.* -2014.- V. 35 (12).- P. 631–639.
19. Uyanik B., Grigorash B.B., Goloudina A.R., Demidov O.N. DNA damage-induced phosphatase Wip1 in regulation of hematopoiesis, immune system and inflammation // *Cell Death Discov.* 2017. V. 3. P. 17–18.
20. Губский Ю.И. Смерть клетки: свободные радикалы, некроз, апоптоз. Винница: Нова Книга, 2015. 360 с.
21. Daszkiewicz L., Vazquez-Mateo C., Rackov G. et al. Distinct p21 requirements for regulating normal and self-reactive T cells through IFN- γ production // *Sci. Rep.* 2015. № 5. P. 76–91.
22. Peng Y.T., Chen P., Ouyang R.Y., Song L. Multifaceted role of prohibitin in cell survival and apoptosis // *Apoptosis.* 2015. № 20 (9). P. 1135–1149
23. Farina B., Di Sorbo G., Chambery A. et al. Structural and biochemical insights of CypA and AIF interaction // *Sci. Rep.* 2017. № 7 (1). P. 1138–1145
24. Koizumi Y., Nagase H., Nakajima T. et al. Toll-like receptor 3 ligand specifically induced bronchial epithelial cell death in caspase dependent manner and functionally upregulated Fas expression // *Allergol. Int.* 2016. № 65. P. 30–37.
25. Eleftheriadis T., Pissas G., Antoniadis G. et al. Malate dehydrogenase 2 inhibitor LW6 promotes metabolic adaptations and reduces proliferation and apoptosis in activated human T-cells // *Exp. Ther. Med.* 2015. № 10 (5). P. 1959–1966.
26. Coughlan M.T., Higgins G.C., Nguyen T.V. et al. Deficiency in apoptosis-inducing factor recapitulates chronic kidney disease via aberrant mitochondrial homeostasis // *Diabetes.* 2016. № 65 (4). P. 1085–1098.