

ХЛОРНОВАТИСТАЯ КИСЛОТА КАК ПРЕДШЕСТВЕННИК СВОБОДНЫХ РАДИКАЛОВ В ЖИВЫХ СИСТЕМАХ

©2013 г. О. М. ПАНАСЕНКО^{1,2}, И. В. ГОРУДКО³,
А. В. СОКОЛОВ^{1,4}

¹ ФГБУН Научно-исследовательский институт физико-химической медицины ФМБА России, Москва

² ГБОУ ВПО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова Минздрава России, Москва

³ Белорусский государственный университет, Минск

⁴ ФГБУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины» СЗО РАМН, Санкт-Петербург

I. Введение. II. Пути образования НОС1 в организме человека. III. Образование свободных радикалов в реакциях с участием НОС1. IV. Активные формы галогенов и галогенирующий стресс в развитии заболеваний человека. V. Заключение.

I. ВВЕДЕНИЕ

Эндогенные радикалы, образующиеся *in vivo*, принято делить на первичные, вторичные и третичные [1]. Первые из них (семихиноны, $\cdot\text{O}_2^-$, $\cdot\text{NO}$) образуются в ферментативных реакциях (дыхательная цепь переноса электронов, ферментативные системы клеток крови и сосудов) и являются необходимыми компонентами для нормального функционирования клеток и организма в целом. Вторичные радикалы ($\cdot\text{OH}$, липидные радикалы: $\text{L}\cdot$, $\text{LO}\cdot$, $\text{LOO}\cdot$ и др.) возникают, как правило, в неферментативных реакциях с участием молекулярных

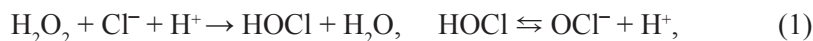
Принятые сокращения: АФГ – активные формы галогенов; АФК – активные формы кислорода; ДМПО – 5,5-диметил-1-пирролин-N-оксид; МПО – миелопероксидаза; ПОЛ – перекисное окисление липидов; СОД – супероксиддисмутаза; ЭПО – пероксидаза эозинофилов; Hal – галоген; LOOH – гидропероксид липида.

Адрес для корреспонденции: o-panas@mail.ru

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 11-04-01262-а и 12-04-90003-Бел_а.

предшественников, таких как H_2O_2 , гидропероксиды липидов (LOOH) и др. Наконец, третичные радикалы образуются в результате перехвата главным образом вторичных радикалов антиоксидантами-ловушками (α -токоферол, тироксин и др.). Вторичные радикалы, в отличие от первичных, обладают цитотоксическим действием. Именно образование вторичных радикалов, вступающих в реакции с многими биологически важными молекулами, приводит к развитию различных социально-значимых заболеваний [1].

Одним из наиболее важных молекулярных предшественников свободных радикалов в организме является хлорноватистая кислота (HOCl), соль которой называется гипохлоритом (OCl⁻). HOCl образуется по реакции:



катализируемой ферментами, относящимися к семейству пероксидаз млекопитающих. HOCl имеет рК 7,5 [2]. Это значит, что при физиологическом рН HOCl и OCl⁻ присутствуют в водной среде примерно в равных концентрациях. HOCl, сама по себе, будучи сильным окислителем, является важнейшей составляющей бактерицидной системы организма человека и животных. С другой стороны, благодаря повышенной реакционности и способности выполнять роль молекулы-предшественника свободных радикалов, HOCl, реагируя с многими биологически важными молекулами, оказывает цитотоксический эффект и может провоцировать развитие целого ряда заболеваний, так или иначе сопряженных с воспалительной реакцией организма (сердечно-сосудистые, онкологические, нейродегенеративные и др.) [3].

В настоящем обзоре мы сосредоточим свое внимание на механизмах образования HOCl *in vivo*, на ее реакциях с различными неорганическими и органическими биологически важными молекулами, ведущих к образованию высоко реакционных свободных радикалов. Кратко рассмотрим последствия этих реакций, провоцирующих развитие различных заболеваний человека.

II. ПУТИ ОБРАЗОВАНИЯ HOCl В ОРГАНИЗМЕ ЧЕЛОВЕКА

Семейство гемсодержащих пероксидаз млекопитающих (донор: H_2O_2 -оксидоредуктаза, КФ 1.11.1.7) состоит из 4-х основных ферментов: миелопероксидазы (МПО), пероксидазы эозинофилов (ЭПО), лактопероксидазы и тиреоидной пероксидазы. МПО в основном содержится в азурофильных гранулах нейтрофилов и составляет

2–5% от общего клеточного белка или 2–4 мкг в 10^6 клеток [4, 5]. Фермент также обнаружен в лизосомах моноцитов, но в заметно меньших количествах (0,9% по весу), постепенно исчезая по мере их перерождения в макрофаги [6, 7]. ЭПО содержится в матриксе специфических гранул эозинофилов и составляет примерно 5% от общего белка этих гранул или 15 мкг в 10^6 клеток [8, 9]. Гомология аминокислотных последовательностей МПО и ЭПО достигает 70% [10], что объясняет сходство их функциональных и ферментативных свойств [11, 12]. Лактопероксидаза содержится в секретах экзокринных желез: молоке, слюне, слезной жидкости, выполняя там главным образом бактерицидную функцию [13]. Тиреоидная пероксидаза – фермент щитовидной железы, обеспечивающий иодирование, необходимое для синтеза тиреоидных гормонов [14]. В крови два последних фермента не определяются и в физиологических условиях не способны окислить хлорид до НОСІ. Учитывая это обстоятельство, их вряд ли можно отнести к потенциальным источникам НОСІ *in vivo*.

Схема основных ферментативных реакций пероксидаз млекопитающих приведена на рис. 1. В результате каталитического цикла железо гема претерпевает последовательное окисление и восстановление. Ферри-форма нативного фермента (МПО-Fe³⁺) быстро ($2 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$ [15]) окисляется пероксидом водорода, превращаясь в соединение I (МПО⁺-Fe^{4+=O}) [15–17]. Последнее представляет собой разновидность оксоферрил-порфири-катион-радикала, где кислород присоединен двойной связью к иону железа в феррильном состоянии (реакция 1 на рис. 1) [16, 18]. Соединение I, имея двухэлектронный редокс-потенциал 1,16 В [12], обладает высокой реакционной способностью и катализирует окисление ионов галогенидов (Cl⁻, Br⁻, I⁻) до соответствующих гипогалоидных кислот: НОСІ, бромноватистой (НОВг) и иодноватистой (НОІ) с образованием нативной ферри-формы фермента (реакция 2, рис. 1) [11, 12, 16, 18]. Реакции 1 и 2 (рис. 1) принято называть циклом галогенирования, который описывается суммарным уравнением (1).

В присутствии доноров электрона АН (Тур, аскорбат, урат, нитрит, катехоламины и множество ксенобиотиков ароматической природы) соединение I может восстанавливаться в соединение II (МПО-Fe^{4+-OH}), что сопровождается одноэлектронным окислением субстратов с образованием А[•]-радикалов (реакция 3, рис. 1) [12, 16, 19]. Соединение II каталитически неактивно в отношении галогенидов, однако оно так же, как и соединение I способно осуществлять одноэлектронное окисление субстратов (АН). При этом регенерируется нативный фермент (реакции 4, рис. 1) [12, 16, 19].

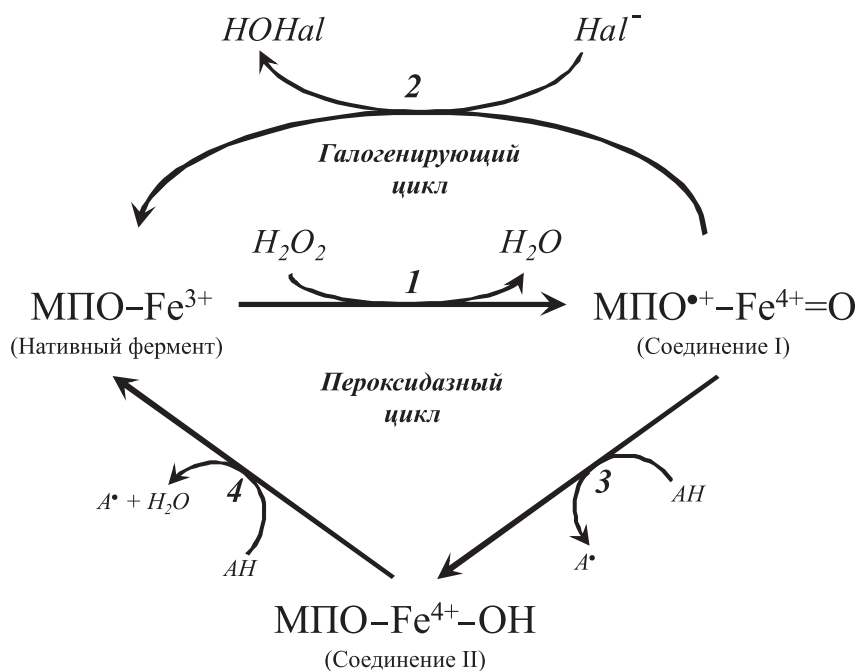


Рис. 1. Схема функционирования галогенирующего и пероксидазного циклов МПО. *Hal* – галоген.

Таким образом, реакции 1, 3 и 4 (см. рис. 1) представляют собой классический пероксидазный цикл.

В ряде работ было показано, что при стимулировании лейкоцитов от 20 до 70% пероксида водорода расходуется на образование HOCl [20, 21]. ЭПО окисляет хлорид достаточно быстро лишь при низких значениях pH [22]. Учитывая эти обстоятельства, а также тот факт, что содержание нейтрофилов в крови человека примерно в 20 раз превосходит содержание эозинофилов, а константа скорости реакции окисления хлорида МПО при физиологических pH примерно на порядок выше таковой для ЭПО ($2,5 \times 10^4$ и $3,1 \times 10^3 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ соответственно [11, 12]), то можно заключить, что основным источником HOCl в организме является лейкоцитарная МПО.

В норме лейкоциты находятся в спокойном, неактивном состоянии. Первым ответом на появление чужеродных микроорганизмов является стимуляция лейкоцитов, что сопровождается изменением их формы, адгезией, направленным движением в очаг повреждения, усиленным потреблением кислорода («кислородным взрывом»), дегрануляцией

[23]. Дегрануляция характеризуется слиянием цитоплазматических гранул с фагосомой, поступлением содержащихся в гранулах ферментов в фагосому и частичной секрецией этих ферментов (в том числе МПО) во внеклеточное пространство [23, 24]. Методом твердофазного иммуноферментного анализа было установлено, что содержание МПО в сыворотке здоровых людей составляет 10–250 нг/мл [25] и может повышаться при воспалительных заболеваниях, в частности, при остром коронарном синдроме, достигая 1110 нг/мл [26]. Не сложный обсчет данных, приведенных в работе [27], свидетельствует о том, что локальная концентрация НОСІ/ОСІ⁻ в очаге воспаления может достигать 25–50 мМ.

III. ОБРАЗОВАНИЕ СВОБОДНЫХ РАДИКАЛОВ В РЕАКЦИЯХ С УЧАСТИЕМ НОСІ

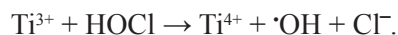
РЕАКЦИИ С НЕОРГАНИЧЕСКИМИ СОЕДИНЕНИЯМИ

Все радикалообразующие реакции с участием НОСІ условно можно разбить на 2 группы: реакции с низкомолекулярными неорганическими соединениями и с функциональными группами липидов, белков, углеводов и других биополимеров. Среди первых необходимо выделить реакции, в которых образуется $\cdot\text{OH}$, поскольку этот радикал является наиболее реакционноспособным. Его время жизни не превышает 10^{-9} с [28]. Еще в 1980 году было постулировано образование $\cdot\text{OH}$ в реакции НОСІ с супероксидным анион-радикалом [29]:

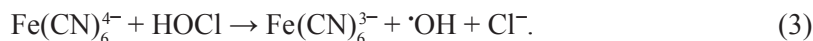


Впоследствии это предположение было подтверждено экспериментально [30].

Другая важная реакция, ведущая к образованию $\cdot\text{OH}$, протекает с участием ионов металлов переменной валентности. Так, методом ЭПР непрерывной струи было установлено, что НОСІ осуществляет одноэлектронное окисление ионов Ti^{3+} с образованием радикала $\cdot\text{OH}$ [31]:

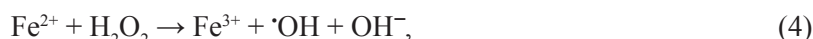


Позднее было показано, что Fe^{2+} в составе комплексного иона $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ окисляется НОСІ с бимолекулярной константой скорости $114 \pm 7 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$ (рН 7,2), согласно уравнению [19, 30]:



При снижении рН по мере депротонирования НОСІ (pK_a 7,5) константа скорости уменьшалась, свидетельствуя о том, что реакционной фор-

мой является молекула кислоты (НОСl), а не анион гипохлорита (ОСГ) [19, 30]. При сравнении методом хемиллюминесценции и ЭПР закономерностей реакции НОСl с Fe^{2+} с известной реакцией Фентона, в которой образуется радикал $\cdot OH$:

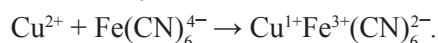


оказалось, что кинетики свечения и спектры хемиллюминесценции, а также параметры спектров ЭПР спинового аддукта ловушки *N-трет*-бутил- α -фенилнитрона, зарегистрированные в обеих реакциях, аналогичны [32, 33]. Данный факт легко объяснить, если предположить, что в сравниваемых реакциях образуются радикалы одного типа. В таком случае реакцию НОСl с Fe^{2+} можно описать уравнением:



Для сравнения можно отметить, что константа скорости реакции Фентона, измеренная разными исследователями, колеблется в пределах 42–79 $M^{-1}c^{-1}$ [34].

Интересно, что реакцию (3) катализируют ионы Cu^{2+} , вероятнее всего, по следующей схеме:

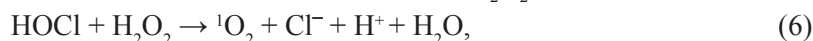


Далее Cu^{1+} выступает в качестве донора электрона:



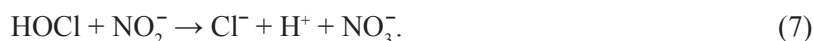
что приводит к увеличению константы скорости реакции до $1,8 \times 10^5 M^{-1}(\text{по меди})c^{-1}$ [35].

Необходимо также отметить реакции с НОСl, которые сами по себе не ведут к образованию свободных радикалов, но при этом образуются молекулы, распадающиеся на свободные радикалы или же вступающие в дальнейшие реакции с образованием свободных радикалов. Прежде всего, это реакция с H_2O_2 :



в которой образуется синглетный кислород (1O_2), способный взаимодействовать с ненасыщенными связями липидов в 1500 раз активнее триплетного с образованием гидропероксидов, что приводит к иницированию свободнорадикального перекисного окисления липидов (ПОЛ) [36].

Другой важной реакцией является реакция НОСl с нитритом, описываемая суммарным уравнением ($k=7,4 \times 10^3 M^{-1}c^{-1}$ при рН 7,2, 25°C [37]):



Установлено, что в ходе реакции (7) в качестве интермедиата образуется хлористый нитрил (NO₂Cl) [37, 38], который обладает не только нитрующим, но и выраженным хлорирующим действием в отношении фенольных соединений, в частности, тирозина [39]. Вероятнее всего, это обусловлено распадом NO₂Cl на радикалы [39]:



что приводит к инициированию свободнорадикальных реакций в белках и липидах, в частности, образованию тирозильного радикала [39] и ПОЛ [37, 40].

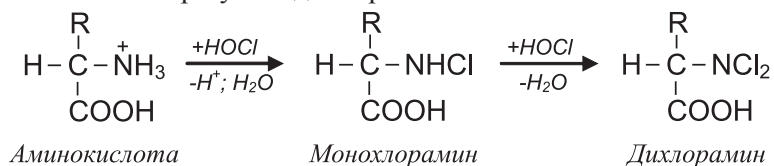
Реакция HOCl с NO также приводит к образованию радикала Cl[•] [41]:



Судя по pH-зависимости данной реакции, для ее протекания важна именно молекулярная форма HOCl, тогда как в экзотермической реакции с гипохлорит-анионом (OCl⁻) вместо радикальных продуктов образуется двуокись азота (NO₂). Образующийся в реакции (9) нитрит может реагировать с HOCl по реакции (7). Таким образом, молекулу HOCl с учетом реакций (7), (8) и (9) можно считать предшественницей свободных радикалов.

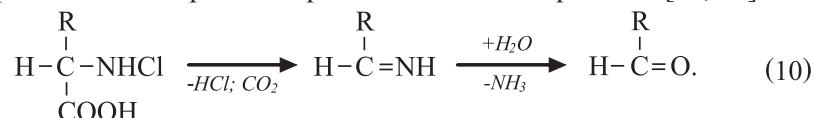
РЕАКЦИИ С АМИНОКИСЛОТАМИ

HOCl вступает в реакцию как с α-аминогруппой, так и с некоторыми функциональными группами боковых цепей аминокислот [42]. С точки зрения возможного образования свободных радикалов особого внимания заслуживает реакция HOCl с аминогруппой. В случае аминокислот, в боковой цепи которых отсутствует функциональная группа, способная реагировать с HOCl (Gly, Ala, Val, Ser), реакция идет только с α-аминогруппой с образованием монохлорамина, при избытке HOCl образуется дихлорамин:

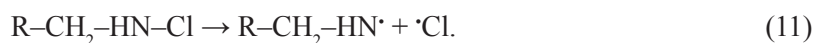


В физиологических условиях образование дихлораминов маловероятно, поскольку концентрация HOCl *in vivo* не высока. Скорость первой из указанных реакций весьма значительна, ее константа в зависимости от аминокислоты варьирует в пределах от 5,4 × 10⁴ М⁻¹с⁻¹ для Ala до 1,7 × 10⁵ М⁻¹с⁻¹ для Ser [42]. Хлорамины в α-положении от

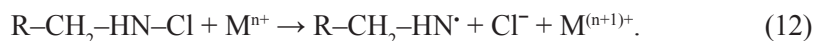
карбоксильной группы неустойчивы (время полужизни от нескольких минут до нескольких часов [43]) и разлагаются до альдегидов, проходя через стадии декарбоксилирования и дезаминирования [44, 45]:



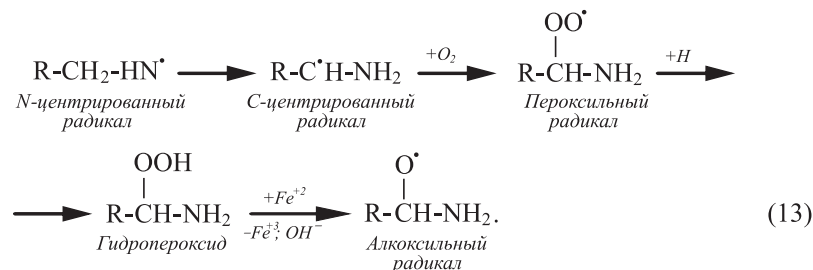
Существовала гипотеза, что аминогруппа боковой цепи Lys также может хлорироваться и гидролизываться с образованием альдегида [46, 47]. Однако, позднее этот механизм был оспорен на том основании, что существенное образование карбонильных соединений обнаруживалось лишь в том случае, когда хлорамин находился в α -положении от карбоксильной группы, как это имеет место в случае хлорамина α -аминокислоты [48]. Не было получено каких либо доказательств того, что альдегиды образуются из хлорамина ϵ -аминогруппы Lys [49]. Более того, было установлено, что N-Cl связь хлорамина ϵ -аминогруппы Lys может претерпевать термальный гомолитический разрыв с образованием свободных радикалов:



Распад N-Cl связи наблюдали и при восстановлении хлорамина Lys, например, ионами металлов переменной валентности:



Методом спиновых ловушек с использованием ^{15}N -меченного Lys было доказано, что в обоих случаях сначала образуется N-центрированный радикал, который со временем трансформируется в C-центрированный, а в аэробных условиях быстро превращается в пероксильный радикал [43, 50, 51]. Последний может присоединять протон с образованием гидропероксида, который, взаимодействуя с ионами металлов переменной валентности, превращается в алкоксильный радикал [52]:



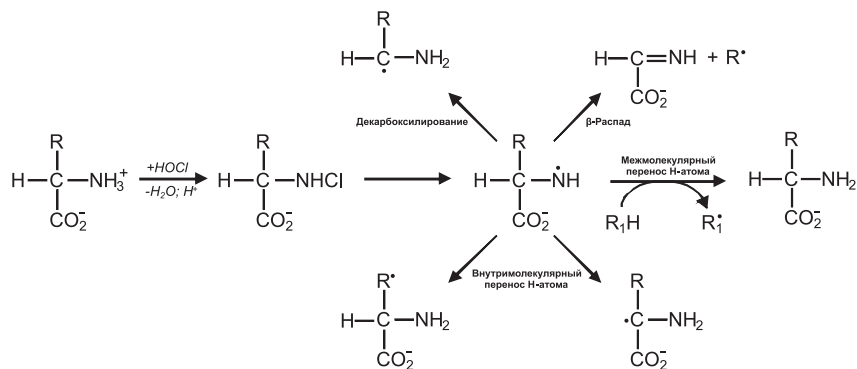
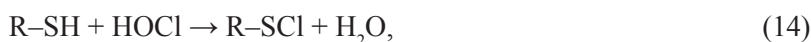


Рис. 2. Образование свободных радикалов в реакции HOCl с NH₂-группой аминокислот.

В экспериментах, проведенных с Lys и другими аминокислотами было установлено, что из хлорамина α-аминокислот также образуется N-центрированный радикал, который быстро претерпевает дальнейшие перестройки, включая декарбоксилирование, β-распад, внутри- или межмолекулярный перенос H-атома [43]. При этом во всех случаях образуются C-центрированные радикалы (рис. 2). Таким образом, хлорамины α-аминокислот помимо дезаминирования и декарбоксилирования по молекулярному механизму могут претерпевать распад через стадии образования свободных радикалов, усиливая тем самым цитотоксический эффект и способствуя повреждению тканей и органов с развитием различных заболеваний [47, 53].

Методом спиновых ловушек было показано, что в реакции HOCl с Cys и другими низкомолекулярными тиолами (гомоцистеин, N-ацетилцистеин, цистамин, 3-меркаптопропионовая кислота и др.) образуется тиильный радикал [54]. Вероятнее всего, это происходит через образование в качестве интермедиата сульфенилхлорида (R-SCl):



который в присутствии ионов металлов переменной валентности, при нагревании или УФ-облучении распадается с образованием тиильного радикала (R-S[•]) [54].

РЕАКЦИИ С БЕЛКАМИ

Понятно, что все рассмотренные выше реакции HOCl с функциональными группами боковых цепей аминокислот могут иметь место в случае белков и полипептидов. Однако следует помнить, что реакционная способность функциональных групп боковых цепей аминокислот может заметно отличаться от таковой для тех же

самых групп в составе полипептидной цепи. Так, обработка малых глобулярных белков инсулина (5,7 кДа) и лизоцима (14,4 кДа) НОСІ в возрастающей концентрации приводила к модификации ряда аминокислотных остатков (His, Lys, Arg, Tyr и др.), но характер их убыли заметно отличался от убыли тех же остатков из смеси индивидуальных N-ацетилированных аминокислот, моделирующих аминокислотный состав исследованных белков [55]. Это значит, что третичная структура белковой глобулы существенным образом влияет на реакционную способность боковых аминокислотных остатков и/или на их доступность для НОСІ.

При действии НОСІ на альбумин и другие белки (миоглобин, рибонуклеаза А, гистоны и др.) в присутствии спиновой ловушки 5,5-диметил-1-пирролин-N-оксида (ДМПО) регистрировались спиновые аддукты N- и C-центрированных радикалов, причем, их образование не связано с присутствием в белке SH-групп, поскольку обогачение белка SH-группами путем добавки 3-меркаптопропионовой кислоты никак не сказывалось на интенсивности и спектральных параметрах сигнала ЭПР регистрируемых спиновых аддуктов [51]. Предварительная блокировка аминокислотных групп лизина восстановительным метилированием или восстановлением хлораминов метионином до аминокислот перед добавлением спиновой ловушки практически полностью предотвращали образование сигналов ЭПР спиновых аддуктов, свидетельствуя о причастности NH₂-групп к возникновению свободнорадикальных интермедиатов. Таким образом, в белке, равно как и в изолированных аминокислотах, основной реакцией, приводящей к образованию свободных радикалов, является реакция НОСІ с NH₂-группами, в результате которой возникает сначала N-центрированный радикал, который затем трансформируется в C-центрированный радикал [51].

Результатом взаимодействия белков с НОСІ, как правило, является их фрагментация, которая главным образом обусловлена деструкцией пептидной связи. При взаимодействии НОСІ с пептидной связью образуется хлорамид (см. схему на рис. 3). Следует отметить, что реакция с амидом пептидной связи идет значительно медленнее, нежели с аминокислотной группой. Константа скорости сильно зависит от химической структуры соединения и варьирует в пределах 3–4-х порядков (от $1,2 \times 10^{-3} \text{ M}^{-1}\text{c}^{-1}$ для N-ацетил-Ala до $25 \text{ M}^{-1}\text{c}^{-1}$ для цикло(Gly)₂) [42].

В водной среде хлорамиды медленно гидролизуются с разрывом пептидной связи и фрагментацией белка [56]. Помимо этого N–Cl связь может претерпевать гомолитический разрыв с образованием N-центрированного радикала, например, в присутствии ионов металлов переменной валентности. Методом спиновых ловушек

было показано, что коротко живущий N-центрированный радикал в результате внутримолекулярной перегруппировки трансформируется в C-центрированный радикал, что приводит к фрагментации полипептидной цепи (см. рис. 3) [43].

Другая причина деградации пептидной связи может быть обусловлена образованием хлорамида или хлорамина в реакции НОСІ с боковой амидной группой Gln [50] или аминок группой Lys [51] соответственно, как это показано на схеме рис. 4 в случае Lys. Сначала образуется N-центрированный радикал боковых цепей Lys (или Gln), который в результате 6-членной внутримолекулярной перегруппировки трансформируется в радикал на C-атоме пептидной связи. В аэробных условиях такой C-центрированный радикал быстро превращается в пероксильный радикал (см. реакцию (13)) с последующей деградацией полипептидной цепи [57].

Можно привести много примеров деградации белка под действием НОСІ, образующейся в МПО-зависимых реакциях. Так уже в ранних исследованиях было обнаружено, что 3-х кратный избыток НОСІ по отношению к количеству аминокислотных остатков в овальбумине вызывает его фрагментацию [58]. Низкомолекулярные пептиды были обнаружены и при обработке НОСІ иммуноглобулинов IgA, IgG и IgM [59]. Трансферрин, церулоплазмин и супероксиддисмутаза (СОД) при взаимодействии с НОСІ также распадались на фрагменты [60]. НОСІ, образующаяся по МПО-зависимому механизму при активации нейтрофилов, вызывала деградацию аполипопротеина А-I [61].

НОСІ фрагментировала также альбумин, рибонуклеазу А, миоглобин и некоторые другие белки, причем, эффект строго зависел от концентрации НОСІ и времени инкубации [51]. Несмотря на то, что одна молекула альбумина имела в своем составе гораздо больше боковых функциональных групп-мишеней для НОСІ (1 Cys, 4 Met, 2 Trp, 59 Lys, всего 66), чем рибонуклеазы А (10 Lys, 4 Met, всего 14), для фрагментации последней требовалось большее количество молей НОСІ на пептидную связь. Более того, если остатки Lys в альбумине были предварительно блокированы восстановительным метилированием, то для фрагментации белка было достаточно меньшего количества НОСІ. Такой результат подтверждает гипотезу [56], согласно которой фрагментация белка происходит более эффективно, если НОСІ реагирует непосредственно с азотом пептидной связи, образуя хлорамид (см. рис. 3). Однако это может происходить только в том случае, если большая часть боковых функциональных групп-мишеней НОСІ блокирована или недоступна для НОСІ, поскольку константа скорости реакции НОСІ с пептидной связью значительно уступает по величине таковой в случае боковых групп Met, Cys,

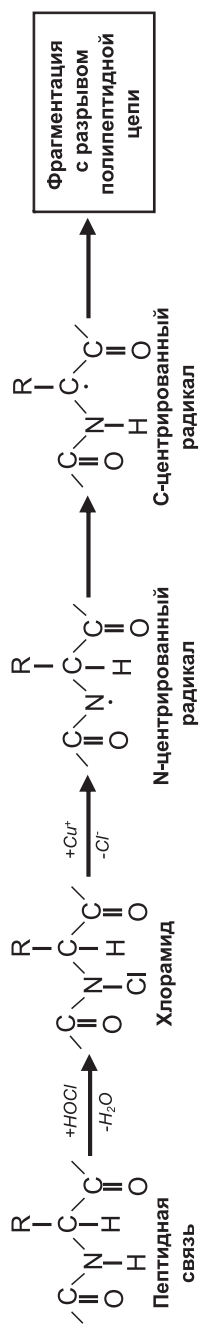


Рис. 3. Образование N- и C-центрированных радикалов с последующей фрагментацией полипептидной цепи в реакции HOCl с пептидной связью.

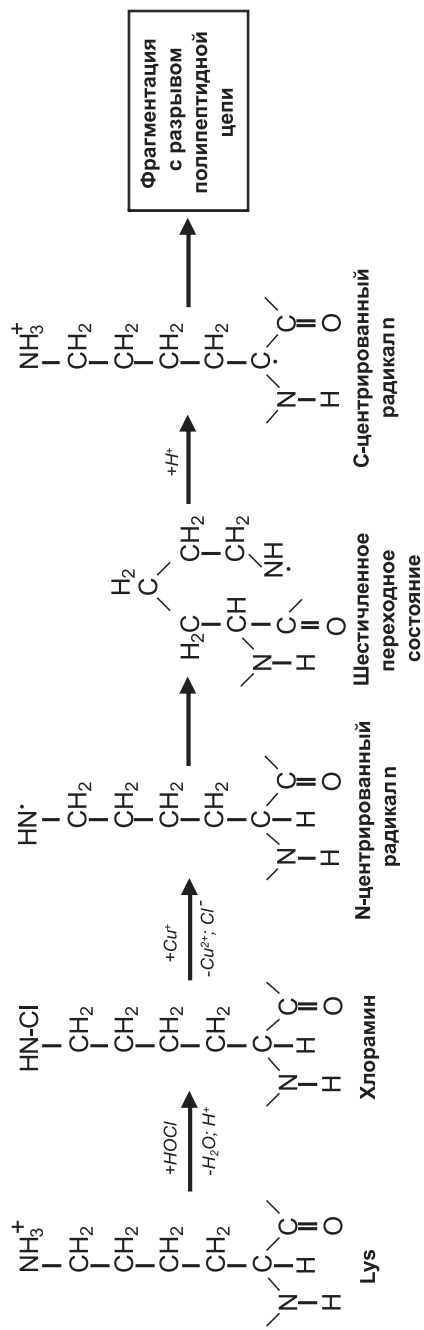


Рис. 4. Схема образования N-центрированного радикала Lys с последующей его трансформацией в C-центрированный радикал пептидной связи и фрагментацией полипептида в реакции HOCl с NH₂-группой остатка Lys.

His, Trp, Lys [42]. Увеличение времени инкубации альбумина с небольшим избытком НОС1 (НОС1/белок < 50 моль/моль) также приводило к усилению фрагментации белка. Причем, в этом случае фрагментация была обусловлена реакцией НОС1 с боковыми функциональными группами, главным образом, с остатками Lys с образованием хлораминов Lys и их последующего распада сначала до N-, а потом и до C-центрированных радикалов, согласно схеме рис. 4. Такой механизм подтверждается тем, что перехватчики радикалов (аскорбат, глутатион и Тролокс) и метионин, восстанавливающие образовавшиеся хлорамины, препятствовали деградации белка [51].

Аналогичные результаты были получены при действии НОС1 на плазму крови человека [62]. Добавление НОС1 к плазме сопровождалось образованием хлораминов, параллельно с распадом которых регистрировались спиновые аддукты N- и C-центрированных радикалов, как это имело место в случае изолированных из плазмы белков [51]. Регистрируемые парамагнитные центры были связаны с белковой фракцией плазмы. По мере увеличения концентрации НОС1 или времени ее инкубации с плазмой возрастала фрагментация белков, о чем свидетельствовали результаты гель-электрофореза, а также увеличение подвижности спиновых аддуктов радикалов. Фрагментация белков ингибировалась добавлением метионина и других реагентов (аскорбата, урата, глутатиона и Тролокс), элиминирующих хлорамины или перехватывающих свободные радикалы. Полученные результаты подтверждают гипотезу, согласно которой образующиеся в реакции НОС1 с NH_2 -группами белка хлорамины распадаются с образованием N-центрированных радикалов, которые трансформируются в C-центрированные радикалы с последующей фрагментацией полипептидной цепи [62]. Такая свободнорадикальная деградация белка может иметь место в плазме крови в условиях окислительного стресса и воспаления.

Следует отметить, что при действии НОС1 на плазму крови человека спиновые аддукты тиольных радикалов не были зарегистрированы. Они обнаруживались только при добавлении в плазму глутатиона [62]. Таким образом, если тиольные радикалы и образуются при обработке плазмы НОС1 (см. реакцию (14)), то они являются минорными, а фрагментация белка по свободнорадикальному механизму обусловлена гомолитическим распадом N–Cl связи хлораминов и хлораминов с образованием N-центрированных радикалов.

Действие НОС1 на ферменты, как правило, сопровождается в той или иной степени их инактивацией, что может быть обусловлено как модификацией ключевых аминокислотных остатков, локализованных

в активном центре, так и неспецифическими реакциями, приводящими к изменению физико-химических свойств полипептидной цепи (изменение конформации, фрагментация и т.п.). В некоторых случаях участие свободнорадикальных интермедиатов в инактивации ферментов под действием НОСІ или функционирующей МПО подтверждается тем, что перехватчики свободных радикалов частично или полностью сохраняют активность фермента [63].

В табл. 1 приведен перечень ферментов, модификация которых исследовалась разными авторами при действии НОСІ, функционирующей МПО или активированных нейтрофилов. Во всех случаях была зарегистрирована в той или иной мере инактивация ферментов. Исключение составили коллагеназа и желатиназа специфических гранул нейтрофилов, которые активировались как в присутствии НОСІ [84–87], так и стимулированных нейтрофилов по НОСІ-зависимому пути [85, 86, 88]. В ряде случаев белки, обработанные НОСІ, становились более чувствительны к протеолитическим ферментам. Так, предварительная инкубация фибронектина и коллагена в присутствии НОСІ увеличивала протеолитическую активность эластазы и коллагеназы в отношении указанных белков соответственно [53, 89]. Однако следует отметить, что протеолитические ферменты гранулоцитов активировались лишь в узком диапазоне концентраций НОСІ, не превышающем мольного соотношения НОСІ/фермент в 10–40 раз. Более высокие концентрации НОСІ, а также более длительные времена инкубации в присутствии активированных нейтрофилов или МПО приводили к инактивации коллагеназы, желатиназы и эластазы [68, 87].

РЕАКЦИИ С НУКЛЕОТИДАМИ, НУКЛЕИНОВЫМИ КИСЛОТАМИ

Известно, что НОСІ не взаимодействует с рибозой [35], поэтому наиболее вероятной мишенью для этого реагента в нуклеотидах может быть азот в азотистых основаниях, который локализован как в гетероцикле, так и вне его. Гипогалоидные кислоты с третичным азотом, в частности, с 3-метилтимидином не реагируют [90]. Остается полагать, что в реакцию может вступать либо первичный азот аминогрупп цитидина, гуанозина и аденозина ($-NH_2$), либо вторичный азот иминогруппы, локализованный в гетероцикле уридина, тимидина и гуанозина ($>NH$). В табл. 2 приведены константы скорости бимолекулярных реакций НОСІ с мононуклеотидами, полимерами на их основе и ДНК. Видно, что скорость взаимодействия НОСІ с первичным N-атомом вне цикла значительно медленнее, нежели с вторичным азотом в цикле. Для гуанозин монофосфата, содержащего

Таблица 1
**Перечень ферментов, инактивированных НОСl,
 функционирующей МПО или в присутствии активированных
 нейтрофилов**

Фермент	Модификатор	Ссылки
Супероксиддисмутаза	НОСl, нейтрофилы	[60, 64–66]
Глутатионпероксидаза	НОСl	[64]
Каталаза	НОСl	[64, 67]
Миелопероксидаза	НОСl, МПО	[63, 68, 69]
Креатинкиназа	НОСl	[70]
Ксантиноксидаза	НОСl, нейтрофилы	[71]
Церулоплазмин	НОСl	[60]
Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа	НОСl	[72]
Алкогольдеhydroгеназа	НОСl	[72]
Альдолаза	НОСl	[72]
Лактатдеhydroгеназа	НОСl	[72]
Микропероксидаза	НОСl	[72]
Цитохром С	НОСl, МПО	[72]
Папаин	НОСl	[72]
Лизоцим	НОСl, МПО	[55, 68, 73, 74]
β -Глюкуронидаза	МПО	[68]
Катепсин G	МПО	[68]
Фосфолипаза D	НОСl	[75]
Na ⁺ , K ⁺ -АТФ-аза	НОСl, нейтрофилы	[76, 77]
Ca ²⁺ -АТФ-аза	НОСl, нейтрофилы	[78]
Поли(АDP-рибоза)полимераза	НОСl	[79]
Пероксидаза	НОСl	[80]
α_1 -Антипротеиназа	НОСl	[63, 81]
α_1 -Антитрипсин	НОСl, МПО, нейтрофилы	[82, 83]

оба типа N-атомов, были зарегистрированы быстрая и медленная кинетики убыли НОСl в соответствии с хлорированием N-атома в гетероцикле и азота NH₂-группы соответственно (табл. 2) [35].

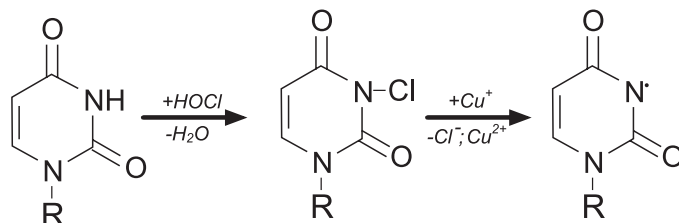
Константа скорости взаимодействия НОСl с полинуклеотидами (полицитидином и полиуридином) существенно не отличается от таковой для соответствующих мононуклеотидов (цитидина и уридина), свидетельствуя о том, что полимеризация не играет заметной роли в реакционной способности N-атомов как в гетероцикле, так

Таблица 2
**Константы скорости второго порядка реакции
 HOCl с имино- и amino-группами мононуклеотидов,
 полимеров на их основе и ДНК (20°C, pH 6,9) [35, 90]**

Нуклеотиды	$k, \text{M}^{-1}\text{c}^{-1}$	
	Имино-группа (>NH) в цикле	Амино-группа (-NH ₂) вне цикла
Цитидин монофосфат	–	83
Уридин монофосфат	$5,5 \times 10^3$	–
Тимидин монофосфат	$4,3 \times 10^3$	–
Гуанозин монофосфат	$2,1 \times 10^4$	2,4
Аденозин монофосфат	–	6,4
Полицитидин	–	308
Полиуридин	$1,3 \times 10^3$	–
ДНК	~10	

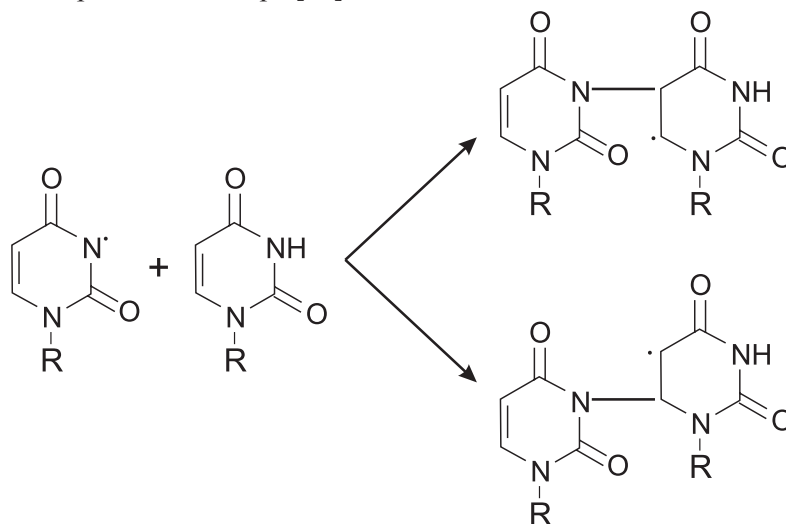
и вне его (табл. 2). В то же время скорость реакции HOCl с ДНК существенно медленнее, нежели с большинством мононуклеотидов, несмотря на то, что в ДНК присутствуют не только медленно реагирующие N-атомы NH₂-групп, но и быстро реагирующие N-атомы гетероциклов азотистых оснований. Данный феномен можно объяснить стерическими затруднениями проникновения HOCl между парами оснований в структуре ДНК. Установлено, что HOCl реагирует с термически денатурированной ДНК примерно в 10 раз быстрее, нежели с нативной [90], что подтверждает высказанную гипотезу.

Хлорпроизводные нуклеотидов обладают разной устойчивостью. Оказалось, что хлорамины NH₂-группы цитидина, аденозина, гуанозина заметно более стойки по сравнению с хлориминами гетероцикла уридина и тимидина [91]. Методом спиновых ловушек было установлено, что при нагревании, УФ-облучении или в присутствии ионов металлов переменной валентности все хлорамины и хлоримины нуклеотидов распадаются с образованием N-центрированных радикалов, как это показано на примере уридина [91]:



В том случае, если HOCl добавлять к смеси нуклеотидов, то по способности образовывать N-центрированные радикалы они располагаются в следующей последовательности: цитидин > аденозин = гуанозин > уридин = тимидин. Эти данные находятся в полном противоречии со скоростью взаимодействия HOCl с нуклеотидами (табл. 2), а также устойчивостью их хлорпроизводных [91]. Однако они легко могут быть объяснены, если предположить, что Cl быстро передается с хлоримина гетероцикла тимидина, уридина или гуанозина на NH₂-группу цитидина и аденозина. Это приводит к увеличению выхода более стабильных хлораминов цитидина и аденозина, которые затем распадаются с образованием N-центрированных радикалов [91].

Взаимодействие образовавшегося N-центрированного радикала с другой молекулой нуклеотида приводит к образованию C-центрированного радикала димера [91].



Аналогичные закономерности наблюдались и в случае обработки полинуклеотидов или нуклеиновых кислот HOCl. Сначала образовывались хлорамины и хлоримины, которые затем распадались с образованием N-центрированных радикалов, что впоследствии приводило к возникновению межмолекулярных сшивок [92] и денатурации ДНК [35].

Однако при действии HOCl на нуклеосому основной мишенью для HOCl является все же белок, а не ДНК. Так, при обработке нуклеосомы 50–200-кратным молярным избытком HOCl около 50–80% последней расходуется на образование хлораминов Lys и His в составе гистона. Эти хлорамины распадаются с образованием

N-центрированных радикалов, которые передают свою свободную валентность на пиримидиновые нуклеотиды, в результате чего образуются межмолекулярные сшивки белок–ДНК и свободнорадикальные центры на нуклеотидах, что в конечном итоге приводит к фрагментации ДНК. Предотвращение такой деструкции ДНК перехватчиками свободных радикалов лишней раз доказывает их участие в этом процессе [93].

Недавно появилось первое сообщение о возможности образования НОС1-индуцированных свободных радикалов в геномной ДНК живых клеток [94]. Для этого авторы использовали метод, основанный на применении иммуно-спиновой ловушки ДМПО и антител против нее. Добавление H_2O_2 к клеткам линии HL-60 или синтез H_2O_2 в системе глюкоза/глюкозооксидаза в присутствии клеток приводили к запуску внутриклеточной МПО и образованию ДНК-центрированных радикалов, которые фиксировались спиновой ловушкой ДМПО и регистрировались методом иммуноферментного анализа с использованием антител против ДМПО. В макрофагах линии RAW 264.7, преинкубированных с липополисахаридом, а затем стимулированных форбол-12-миристат-13-ацетатом, также обнаруживали ДНК-центрированные радикалы. При инкубации МПО с эпителиальными клетками линии A549 фермент проникал внутрь клетки и локализовался на поверхности ядра. После добавления системы глюкоза/глюкозооксидаза, генерирующей H_2O_2 , и активации тем самым цикла хлорирования МПО регистрировались ДНК-центрированные аддукты радикалов без видимых изменений жизнеспособности клеток. Совместная инкубация эпителиальных клеток линии A549 с активированными нейтрофилами также приводила к образованию ДНК-центрированных радикалов в эпителиальных клетках. Во всех случаях проведенные контрольные эксперименты свидетельствовали о том, что образование радикалов в ДНК обусловлено функционированием цикла хлорирования МПО. Результаты работы [94] свидетельствуют о том, что НОС1, образующаяся в цикле хлорирования МПО, проникающей в клетку или заново синтезирующейся в ней, является причиной образования радикалов в геномной ДНК.

РЕАКЦИИ С УГЛЕВОДАМИ

Известно, что нейтрофилы вызывают деструкцию протеогликанов, важной составляющей частью которых являются полисахаридные цепи [95], причем, в этот процесс вовлечена в том числе и МПО [96]. Основной мишенью в углеводах для НОС1 является азот в

Таблица 3
Константы скорости второго порядка реакции НОСІ с мономерами и полимерами – производными глюкозамина (22°С, рН 7,4) [97, 98]

Соединение	$k, \text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$		Основной продукт
	Моно-сахарид	Гомо-полисахарид	
Незамещенный глюкозамин	$7,6 \times 10^5$	$1,3 \times 10^5$	Монохлорамин (R–NCl–H)
Хлорамин глюкозамина	~14	~4	Дихлорамин (R–NCl ₂)
Глюкозамин-N-сульфат	0,06	0,05	N-хлорсульфамид (R–NCl–SO ₃)
N-Ацетилглюкозамин	0,01	0,01	Хлорамид (R–NCl–C(O)CH ₃)

аминосахарах (D-глюкозамин, D-галактозамин, D-маннозамин и др.), в которых гидроксильная группа при 2-м С-атоме замещена на аминогруппу. Константы скорости бимолекулярных реакций НОСІ с незамещенным глюкозамином, некоторыми его производными, а также полисахаридами на их основе приведены в табл. 3. Со свободной NH₂-группой незамещенного глюкозамина реакция протекает довольно быстро, как правило, даже быстрее, нежели с NH₂-группой аминокислот [42]. Замещение второго атома Н на Cl в NH₂-группе с образованием дихлорамина происходит уже гораздо медленнее и при избытке НОСІ. Наконец, замещенный глюкозамин реагирует с НОСІ еще медленнее. Глюкозамин-N-сульфат в реакции с НОСІ превращается в N-хлорсульфамид, а N-ацетилглюкозамин – в хлорамид. Интересно, что с гомополисахаридами реакция протекает несколько медленнее, нежели с соответствующими моносахаридами. Вероятно, это можно объяснить присутствием стерических препятствий и влиянием отрицательно заряженных групп в полисахариде.

Хлорпроизводные аминокислот и их замещенных аналогов не стойкие соединения и постепенно распадаются с образованием свободнорадикальных интермедиатов. Один из механизмов этого распада на примере гиалуроновой кислоты приведен на рис. 5. Образующийся на первом этапе в реакции с НОСІ хлорамид в результате гомолитического разрыва N–Cl связи (в присутствии ионов металлов переменной валентности) превращается в N-центрированный амидил-радикал. Последний претерпевает внутримолекулярную перегруппировку, изомеризуясь при этом в С-центрированный радикал, что приводит

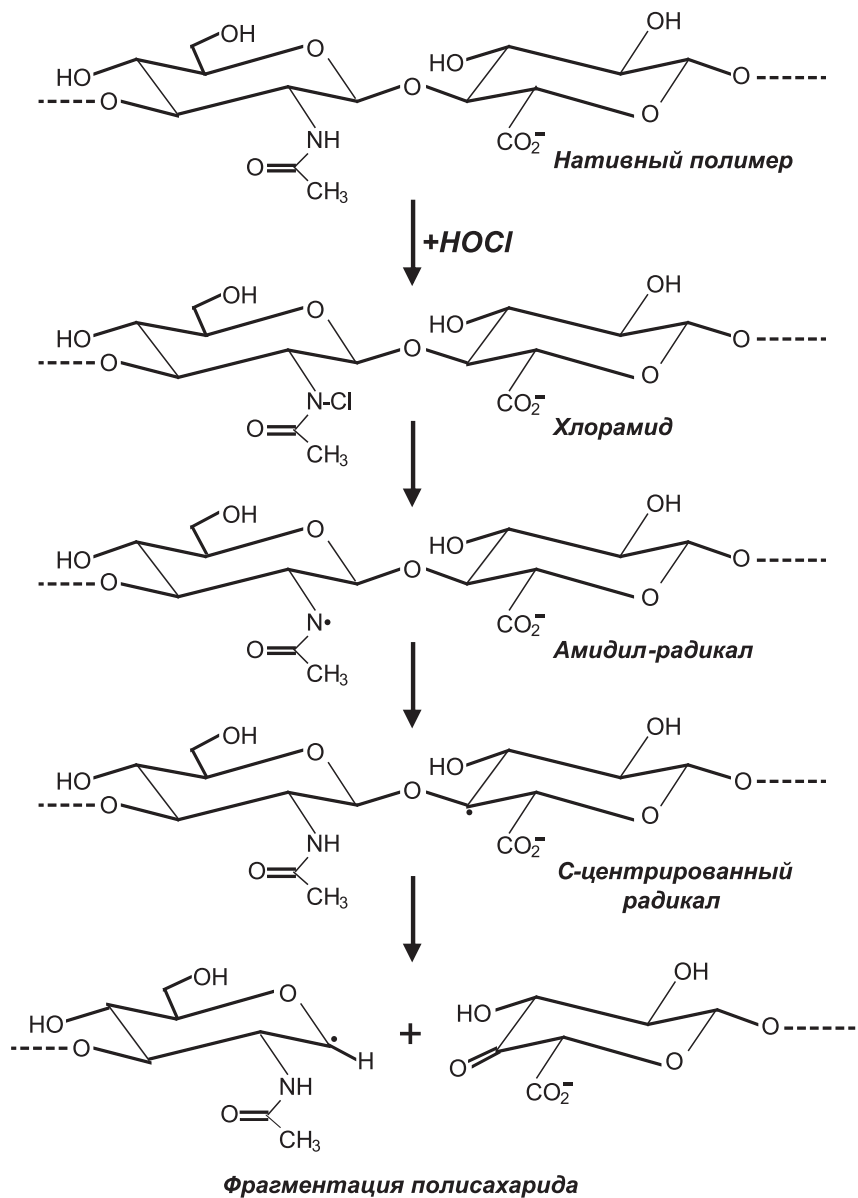
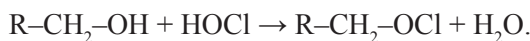


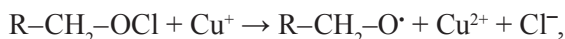
Рис. 5. Схема образования N-центрированного амидил-радикала с последующей его трансформацией в C-центрированный радикал и фрагментацией полисахарида в реакции HOCl с ацетиламидной группой углевода.

к фрагментации полисахаридной цепи [99, 100]. Присутствие $\cdot\text{O}_2^-$ значительно ускоряет гомолитический разрыв N-Cl связи, вероятно, за счет восстановления ионов металлов переменной валентности, усиливая тем самым НОСl-индуцированную деградацию полисахаридов [101, 102].

Недавно был предложен другой механизм НОСl-индуцированной фрагментации полисахаридов с участием свободных радикалов [103, 104]. Этот механизм предполагает прямое взаимодействие НОСl с гидроксильной группой в составе углеводного кольца ($\text{R}-\text{CH}_2-\text{OH}$) по реакции:



Интермедиат $\text{R}-\text{CH}_2-\text{ОСl}$ неустоек и распадается, например, в присутствии ионов металлов переменной валентности до O-центрированного радикала:



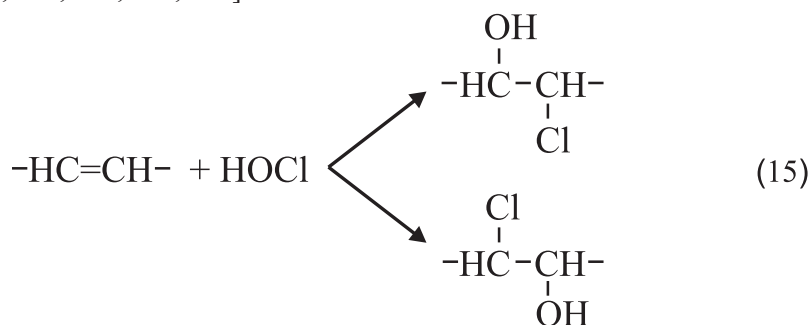
что приводит к разрыву углеводного кольца и фрагментации полисахаридной цепи [103, 104]. Однако в настоящий момент существование такого механизма вряд ли можно считать доказанным.

Поскольку протеогликаны, основные компоненты внеклеточного матрикса, содержат в углеводной части большое количество отрицательно заряженных групп, то МПО, являющаяся поликатионным белком и будучи секретируемой лейкоцитами во внеклеточное пространство, способна за счет электростатических взаимодействий связываться с гликозаминогликанами протеогликанов [96]. Функционирование фермента в непосредственной близости от протеогликанов, сопровождающееся продукцией НОСl, приводит к образованию в их углеводной части хлораминов и хлорамидов. Последние распадаются по радикальному механизму (рис. 5), что сопровождается фрагментацией гликозаминогликанов и внеклеточного матрикса в целом [96, 105].

Последствия такого разрушения внеклеточного матрикса еще мало исследованы. Однако можно ожидать, что деградация протеогликанов должна значительно повлиять на адгезию, миграцию, пролиферацию, рост, фенотип клеток. Вполне вероятно, что описанные в этом разделе свободнорадикальные механизмы МПО-зависимой модификации гликозаминогликанов внеклеточного матрикса могут лежать в основе нарушения функционирования клеток при развитии таких заболеваний, как атеросклероз [106], ревматоидный артрит [107], астма [108, 109] и др., при которых наблюдается интенсивная МПО-зависимая генерация оксидантов, в том числе и НОСl.

РЕАКЦИИ С ЛИПИДАМИ

Известно, что HOCl не взаимодействует с насыщенными жирными кислотами [110–113] и насыщенным фосфатидилхолином [110–117]. Это значит, что HOCl не вступает в реакцию с насыщенными $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ связями, с карбоксильной группой, сложноэфирной связью, а также с фосфохолиновой группой. Константы скорости второго порядка реакции HOCl с соединениями, моделирующими функциональные группы липидов, приведены в табл. 4. Очевидно, что в липидах существуют две основные мишени для HOCl: ненасыщенные связи ацильных цепей и холестерина ($-\text{CH}=\text{CH}-$), а также NH_2 -группы «полярных головок» фосфатидилэтаноламина и фосфатидилсерина. Что касается ненасыщенных связей, то тут можно выделить два основных механизма: молекулярный, протекающий без участия свободных радикалов, и свободнорадикальный (ПОЛ), обязательными участниками которого являются интермедиаты радикальной природы. Взаимодействие HOCl с ненасыщенными связями жирнокислотной цепи, а также их моделями исследовалось методами люминол-зависимой хемилюминесценции [19, 110, 113], иодометрии [19, 122, 123], ^1H -ЯМР [19, 113], спектрофотометрии [120, 124], хроматографии [111] и масс-спектрометрии [111, 112, 125]. Установлено, что основная реакция протекает по механизму электрофильного присоединения HOCl по двойной связи согласно суммарному уравнению (15) с образованием изомеров хлоргидринов [19, 110, 112, 116, 117]:



Константа скорости этой реакции с ненасыщенными связями фосфолипидов в составе липосом заметно меньше таковой, измеренной в случае 3-пентеновой и сорбитовой кислот в растворе (см. табл. 4). Вероятно, это обусловлено тем обстоятельством, что доступность двойных связей в многослойных липосомах для HOCl ограничена и является лимитирующей стадией реакции (15). Это предположение

подтверждает тот факт, что уменьшение числа слоев в липосомах путем их ультразвуковой обработки увеличивало скорость взаимодействия НОСІ с двойными связями в 6–8 раз, приближая ее к таковой, обнаруженной в случае моноламеллярных липосом [110, 113].

Было показано, что по мере инкубации НОСІ с фосфатидилхолиновыми липосомами или липопротеинами крови, содержащими в своем составе ненасыщенные липиды, помимо хлоргидринов регистрировались типичные продукты, обычно выявляемые при иницировании ПОЛ традиционными способами: первичные молекулярные продукты – диеновые конъюгаты и гидропероксиды [122, 123, 126–130]; вторичные продукты карбонильной природы, реагирующие с 2-тиобарбитуровой кислотой [115, 122, 123, 126–128, 131–134]; конечные флуоресцирующие в видимой области света продукты (типа оснований Шиффа), образующиеся при взаимодействии окисленных липидов с белком [132]. НОСІ-индуцированное ПОЛ полностью блокировалось известными перехватчиками свободных радикалов – α -токоферолом и бутилированным гидрокситолуолом в микромолярных концентрациях [37, 122, 123, 128, 129, 133, 134], что подтверждает свободнорадикальный механизм этой реакции. НОСІ проникает в липидную фазу липопротеинов крови [135], вызывает деградацию липидорастворимых антиоксидантов (каротиноидов, α -токоферола) [19, 37, 136], снижая тем самым резистентность липидной фазы липопротеинов к ПОЛ [136].

ПОЛ, как и любая цепная свободнорадикальная реакция, имеет стадии иницирования. Какова стадия иницирования НОСІ-индуцированного ПОЛ? Известно, что следовые количества H_2O_2 ($\sim 10^{-8}$ М) всегда присутствуют в воде в результате ее естественного радиолиза [137]. НОСІ реагирует с H_2O_2 по реакции (6), в которой синтезируется синглетный кислород [138], способный взаимодействовать с ненасыщенными связями липидов в 1500 раз активнее триплетного с образованием гидропероксидов и таким образом иницировать ПОЛ [36]. Более того, НОСІ реагирует с ионами металлов переменной валентности, в частности с Fe^{2+} [19, 30, 32, 139] или супероксидным анион-радикалом (O_2^-) [29, 140] с образованием чрезвычайно реакционного OH -радикала – эффективного инициатора свободнорадикальных реакций ПОЛ (см. реакции (5) и (2) соответственно). Каждая из указанных выше реакций (2), (4) и (5) потенциально способна выполнять роль стадии иницирования НОСІ-индуцированного ПОЛ. Однако предварительное добавление в среду инкубации НОСІ с фосфолипидными липосомами Fe^{2+} , H_2O_2 , каталазы или СОД не приводило к изменению выхода продуктов ПОЛ

Таблица 4
Константы скорости второго порядка реакции НОСІ с соединениями, моделирующими функциональные группы липидов (22°C, рН 7,2–7,4)

Соединение	Структура	k , $M^{-1}s^{-1}$
3-Пентеновая кислота		8,7 [118]
Сорбитовая кислота		2,3 [119]
Липосомы из ненасыщенного фосфатидилхолина		0,47 [115] 0,56 [120] 0,35–2,70* [110]
Холинфосфат		0,018 [118]
Этаноламинфосфат		$1,8 \times 10^4$ [118]
Серинфосфат		$3,3 \times 10^4$ [118]
Гидропероксид <i>трет</i> -бутила	$(CH_3)_3COOH$	10,8 [121]

* Константа скорости увеличивалась в указанном диапазоне с ростом времени предварительной ультразвуковой обработки липосом.

[122, 123], свидетельствуя о том, что участие реакций (2), (5) и (6) в НОСІ-индуцированном ПОЛ маловероятно. Возможно, это связано с тем обстоятельством, что указанные реакции в условиях проводимого эксперимента реализуются в водной фазе, а время жизни 1O_2 и особенно $\cdot OH$ в воде настолько мало (10^{-6} и 10^{-9} с соответственно [28]), что они не успевают продифундировать в гидрофобную липидную фазу, где локализуются ненасыщенные связи – субстрат ПОЛ.

В то же время, методами хемилюминесценции и спиновых ловушек было установлено, что НОСІ реагирует с гидропероксидной группой с образованием пероксильных радикалов, которые затем трансформируются в алкоксильные радикалы [121, 129, 141–147]. В случае гидропероксида жирной кислоты (но не гидропероксида *трет*-бутила или кумола [147–149]) помимо О-центрированных радикалов возможно образование некоторого количества синглет-

ного кислорода [129, 147]. МПО в присутствии субстратов (H_2O_2 и СГ), также как и активированные нейтрофилы, разрушала гидропероксид с образованием О-центрированных радикалов, идентифицированных как пероксильный и алкоксильный [145]. Ингибиторный анализ, проведенный с использованием ловушек НОСІ (таурина и метионина), перехватчиков свободных радикалов (бутилированного гидрокситолуола и маннитола) и ингибиторов МПО (салицилгидроксамовой кислоты и гидразида 4-аминобензойной кислоты), показал, что разрушение гидропероксидной группы в присутствии изолированной МПО или активированных нейтрофилов обусловлено непосредственно работой фермента. Однако лишь часть радикальных интермедиатов возникала в результате функционирования цикла галогенирования МПО – стадии образования НОСІ (см. рис. 1). Другая же часть образовывалась независимо от НОСІ, по всей видимости, с участием пероксидазного цикла МПО [145].

Добавление гидропероксидов в среду инкубации фосфолипидных липосом с НОСІ или МПО+ H_2O_2 +СГ сопровождалось дополнительной аккумуляцией продуктов ПОЛ [115, 129, 134]. Эффект полностью предотвращался ловушкой свободных радикалов – бутилированным гидрокситолуолом, перехватчиками НОСІ – таурином и метионином, а также ингибитором МПО – азидом натрия, свидетельствуя о свободнорадикальном механизме, протекающем с участием цикла галогенирования МПО [134]. Совокупность имеющихся экспериментальных результатов дает возможность утверждать, что МПО-зависимая реакция НОСІ с гидропероксидами, всегда присутствующими в следовых количествах в ненасыщенном липиде [36, 150], протекает с образованием свободных радикалов и может реально иметь место в НОСІ-индуцированном ПОЛ.

Присутствие белка способствует свободнорадикальному НОСІ-индуцированному ПОЛ [151]. В белок-липидных комплексах, например в липопротеинах низкой плотности, НОСІ в первую очередь реагирует с NH_2 -группами аполипопротеина В-100 с образованием хлораминов. Последние в результате гомолитического разрыва N–Cl связи распадаются на свободные радикалы (см. реакции (11) и (12)), которые принимают участие в иницировании ПОЛ [151]. Так или иначе, но НОСІ и в этом случае является предшественником свободных радикалов.

Принимая во внимание приведенные выше результаты, потенциальное участие НОСІ в свободнорадикальной модификации ненасыщенных липидов можно представить при помощи схемы, изображенной на рис. 6. Стимуляция лейкоцитов сопровождается активацией мембраносвязанного фермента – НАДФН-оксидазы,

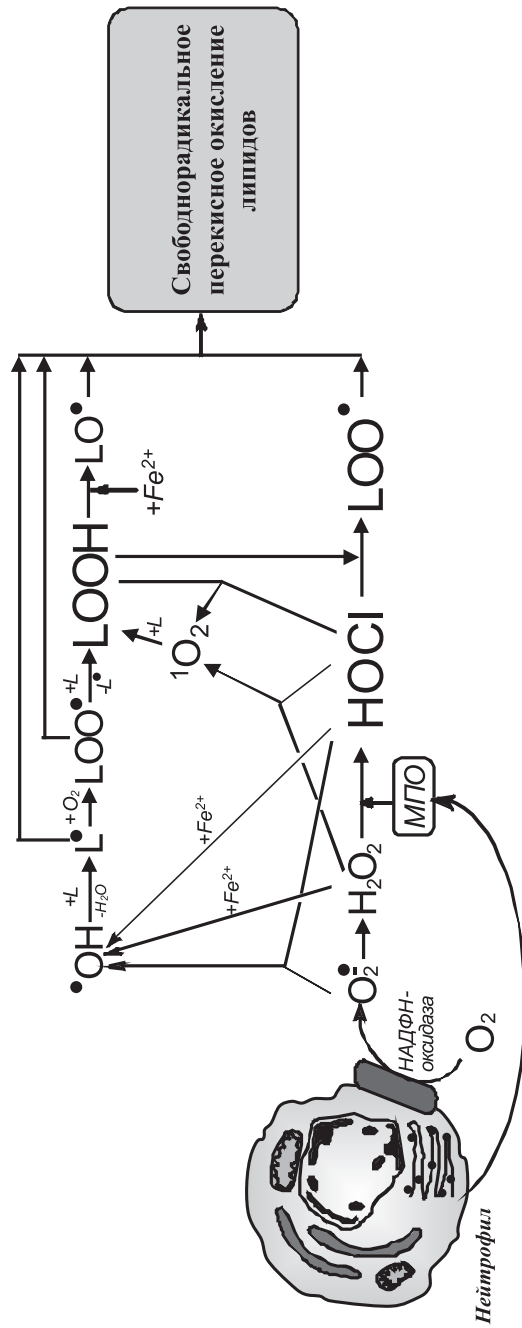
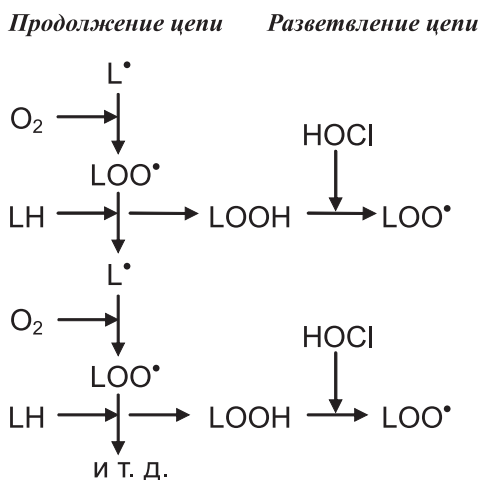


Рис. 6. Схема участка HOCl , продуцируемой активированными нейтрофилами, в инициировании и разветвлении цепей свободнорадикального ПОЛ. Пояснения см. в тексте.

который катализирует образование $\cdot O_2^-$. Последний спонтанно или же под действием другого фермента – СОД дисмутирует до H_2O_2 . При активации лейкоцитов во внеклеточную среду секретруется фермент – МПО, который, используя H_2O_2 в качестве субстрата, катализирует окисление СГ до HOCl. Каждое из упомянутых соединений ($\cdot O_2^-$, HOCl, H_2O_2) может в результате реакций (2), (5), (6), а также реакции Фентона (4) явиться источником $\cdot OH$ -радикала или синглетного кислорода (1O_2). $\cdot OH$ -радикал, отрывая атом водорода от ненасыщенного липида (L), образует алкильный радикал (L \cdot), реализуя, таким образом, стадию инициирования ПОЛ. L \cdot в аэробных условиях присоединяет молекулу кислорода с образованием пероксильного радикала (LOO \cdot), из которого в свою очередь и возникает гидропероксид (LOOH). Последний может образоваться также по молекулярному механизму (без участия свободных радикалов) при взаимодействии ненасыщенного липида с синглетным кислородом (1O_2), который в свою очередь возникает в реакции HOCl с H_2O_2 или гидропероксидом жирнокислотной цепи. Гидропероксид может быть восстановлен ионами Fe^{2+} до алкоксильного радикала (LO \cdot), а может быть окислен под действием HOCl до пероксильного радикала. Оба радикала дают начало цепному свободнорадикальному ПОЛ. Таким образом, HOCl, превращая молекулу гидропероксида в свободный радикал (в данном случае пероксильный), подобно Fe^{2+} способна играть важную роль в интенсификации реакций ПОЛ на стадии разветвления цепей согласно схеме:



Следует отметить, что гидропероксиды могут образовываться в организме не только в результате активации свободнорадикальных

реакций ПОЛ. Известны и другие их источники: фотоиндуцированное окисление с участием синглетного кислорода [152], озонлиз [153], каталитическое окисление ненасыщенных жирнокислотных цепей различными липоксигеназами [154], например, окисление арахидоновой кислоты до лейкотриенов [155].

НОСI реагирует и с единственной ненасыщенной связью холестерина [156]. Методами тонкослойной хроматографии, ЯМР и хроматомасс-спектрометрии было установлено, что добавление НОСI к фосфолипидным липосомам, содержащим холестерин, равно, как и их инкубация в присутствии МПО+H₂O₂+СГ-системы, приводила к образованию изомеров α- и β-хлоргидринов [157, 158]. В отличие от хлоргидринов алифатических углеводородных цепей, хлоргидрины холестерина оказались не стойкими и в результате дальнейшего дегидрохлорирования превращались в эпоксиды. Аналогичные продукты образовывались в ЛНП [159], клеточных мембранах [160] или интактных клетках (рака молочной железы, эритроцитах, нейтрофилах) [160], если их обрабатывали НОСI или инкубировали в присутствии МПО+H₂O₂+СГ-системы. Гидролиз и дальнейшее окисление α- и β-эпоксидов приводили к образованию целого ряда гидрокси- и кето-производных холестерина [156, 161]. Однако в литературе отсутствуют какие-либо экспериментальные факты, указывающие на образование свободных радикалов в ходе этих реакций [162].

Обратимся теперь к механизму взаимодействия НОСI с «полярными головками» фосфолипидов. Здесь единственной реальной мишенью является атом азота. В табл. 4 приведены константы скорости реакций второго порядка НОСI с соединениями, моделирующими «полярные головки» фосфолипидов. В многочисленных экспериментах различными методами было показано, что НОСI не реагирует с заметной скоростью с фосфохолиновой группой фосфатидилхолина [19, 110, 113, 115–117, 125, 163, 164] или соединениями, моделирующими ее [118]. Приведенная в табл. 4 константа скорости, измеренная для холинфосфата, крайне мала. Расчет этой константы проводился по убыли оптической плотности при 290 нм (полоса поглощения ОСГ). Скорость этой труднопроизводимой реакции была чрезвычайно медленной. При этом не было зарегистрировано появления новых спектральных пиков [118], то есть, убыль ОСГ вовсе не обязательно обусловлена реакцией НОСI с холинфосфатом. Вероятнее всего, гипогалоидные кислоты не взаимодействуют с четвертичным атомом азота в фосфохолиновой группе.

Свободные NH_2 -группы фосфатидилэтаноламина и фосфатидилсерина, напротив, быстро реагировали с НОСІ с образованием хлораминов (табл. 4). В случае ненасыщенного фосфатидилэтаноламина в реакцию с НОСІ в первую очередь вступала NH_2 -группа «полярной головки», и только после того, как все амины превращались в дихлорамин, начинали образовываться хлоргидрины [165]. Такой ход событий обусловлен слишком большой разницей (на 3–4 порядка) в константах скорости реакций НОСІ с NH_2 -группой «полярной головки» фосфатидилэтаноламина и ненасыщенной $-\text{C}=\text{C}-$ связью ацильных цепей (см. табл. 4).

Хлорамины «полярных головок» фосфатидилэтаноламина и фосфатидилсерина довольно сильно отличались по своей устойчивости. Так хлорамин серинфосфата разлагался полностью за 60 мин инкубации при 37°C , тогда как хлорамин этаноламинфосфата был значительно стабильнее и практически не разрушался, по крайней мере, в течение 2 часов. Хлорамин фосфатидилсерина в составе липосом в тех же условиях деградировал полностью уже за 15 мин [118]. Такая разница в устойчивости хлораминов фосфатидилэтаноламина и фосфатидилсерина обусловлена тем, что аминогруппа последнего находится по соседству с карбоксильной группой подобно тому, как это имеет место в случае свободных аминокислот. Такие хлорамины неустойчивы и быстро разлагаются с образованием альдегидов (см. реакцию (10)).

Аминогруппа фосфатидилэтаноламина под действием НОСІ сначала превращается в монохлорамин, а потом в дихлорамин [130, 166]. Последний по молекулярному механизму в результате дегидрохлорирования может трансформироваться в нитрил [166], а может претерпевать гомолитический разрыв $\text{N}-\text{Cl}$ связи с образованием N -центрированного радикала [130]. Именно благодаря такому различию в механизмах НОСІ-индуцированного распада хлораминов фосфатидилэтаноламин и фосфатидилсерин способны регулировать МПО-зависимое свободнорадикальное ПОЛ. Было установлено, что присутствие фосфатидилэтаноламина в липосомах из ненасыщенного фосфатидилхолина способствовало дополнительной аккумуляции продуктов ПОЛ в ходе НОСІ-индуцированной перекисидации липидов, благодаря образованию N -центрированного радикала, выполняющего роль инициатора ПОЛ. Добавка к фосфатидилхолиновым липосомам фосфатидилсерина, напротив, ингибировала НОСІ-индуцированную перекисидацию липидов, поскольку снижала концентрацию НОСІ в результате ее взаимодействия с аминогруппой. При этом образовывались только молекулярные продукты, не способные повлиять на реакции ПОЛ [130].

IV. АКТИВНЫЕ ФОРМЫ ГАЛОГЕНОВ И ГАЛОГЕНИРУЮЩИЙ СТРЕСС В РАЗВИТИИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА

Поскольку гипогалоидные кислоты содержат кислород, то их иногда причисляют к активным формам кислорода (АФК) [7 (стр. 27), 167, 168]. Это вряд ли можно признать справедливым, поскольку в молекуле гипогалоидной кислоты (НОHal) окислителем является не кислород, как это имеет место в случае АФК, а атом галогена, который, принимая 2 электрона, превращается в галогенид (Hal⁻):



Именно поэтому гипогалоидные кислоты являются сильными двух-электронными окислителями, их окислительная способность уменьшается в ряду: NOCl > NOBr > NOI. Окислительно-восстановительные потенциалы для пары NOHal/Hal⁻, H₂O составляют соответственно 1,08; 0,93 и 0,57 В [12].

Более того, реакционность гипогалоидных кислот проявляется не только в окислительно-восстановительных реакциях. Они весьма эффективно вступают в реакции присоединения, замещения, обмена и др., модифицируя различные функциональные группы жизненно важных молекул [19, 97, 169]. Теперь уже известно, что МПО- и ЭПО-зависимые реакции с участием галоген-содержащих реагентов, протекающие в живом организме, могут приводить к повреждению тканей и органов и тем самым стимулировать развитие ряда заболеваний [170–172]. Тогда галогенсодержащие реакционные соединения наряду с АФК и активными формами азота было бы правильно выделить в отдельную группу активных форм галогенов (АФГ), а реакцию организма на воздействие АФГ называть галогенирующим стрессом.

Итак, АФГ – это галоген-содержащие соединения, обладающие повышенной реакционной способностью и образующиеся в живом организме или поступающие в него в результате контакта человека с окружающей средой. В таком случае, галогенирующий стресс (с учетом определения «стресса», данного Selye Н. [173]) – это ни что иное как неспецифическая реакция организма на любое оказываемое на него воздействие со стороны АФГ, когда появление или образование в организме АФГ превосходит способность организма удалять или нейтрализовать их.

Воздействие факторов внешней среды чаще всего сводится к отравлению организма в результате попадания в него критических концентраций АФГ при контакте человека или животного с воздухом, почвой, водой, флорой или фауной, а также при дыхании, приеме

пищи и т.д. Это могут быть пестициды, компоненты лекарственных форм, сточных вод, выхлопных газов, других промышленных ядов и прочие реакционные галоген-содержащие соединения. Исследование механизмов токсического воздействия на организм человека АФГ, поступающих из окружающей среды, ранее уже неоднократно обсуждалось в научной литературе [174, 175]. Поэтому мы оставим эту тему за рамками данного обзора и сосредоточим свое внимание на эндогенном галогенирующем стрессе, обусловленном возникновением и превращением АФГ непосредственно в организме человека, а также на возможной роли последствий описанных выше реакций АФГ в патогенезе некоторых заболеваний человека.

Все АФГ эндогенного происхождения, обнаруживаемые в организме млекопитающих, условно можно разбить на две группы: первичные, возникающие непосредственно в результате ферментативных процессов, и вторичные, образующиеся в последующих реакциях первичных АФГ, в том числе с функциональными группами биологически важных соединений, и сохраняющие повышенную реакционность. Если говорить о производных хлора, то НОСІ будет первичной АФГ, поскольку именно она образуется в результате функционирования цикла галогенирования МПО (см. реакцию (1) и рис. 1). Вторичные АФГ – это молекулярный хлор (Cl_2), хлористый нитрил (NO_2Cl), хлорамины и хлорамиды биологически важных молекул, как правило, являющиеся предшественниками свободных радикалов (см. главу III).

Для того, чтобы выяснить причастность МПО/ЭПО к возникновению и/или развитию того или иного заболевания, обычно в крови или очагах проявления этого заболевания определяют концентрацию/активность самого фермента или же присутствие его так называемых биомаркеров. Биомаркер – это молекула или функциональная группа, появление которой однозначно свидетельствует о протекании в исследуемой биологической системе изучаемого явления или процесса. Хороший биомаркер должен удовлетворять, по крайней мере, следующим требованиям: 1) быть специфичным по отношению к изучаемому явлению; 2) иметь большую скорость образования; 3) иметь сравнительно продолжительное время жизни (маленькую скорость распада); 4) накапливаться в организме в концентрации, достаточной для обнаружения; 5) быть обнаруженным имеющимися доступными и чувствительными методами.

В табл. 5 приведены примеры заболеваний, которые характеризуются повышением концентрации/активности МПО или обнаружением биомаркеров – индикаторов повышенной активности этого фермента в крови, пораженных органах и тканях, то есть сопровож-

даются галогенирующим стрессом. В первую очередь, обращает на себя внимание атеросклероз и другие проявления сердечно-сосудистой недостаточности. При этих заболеваниях неоднократно регистрировалось повышение концентрации или активности МПО в плазме крови [187–192, 230], атеросклеротической бляшке [176], лейкоцитах [187], в комплексе с ЛНП и ЛОНП [231].

Важная роль МПО в развитии атеросклероза заключается в модификации основных компонентов поверхности ЛНП (белка и фосфолипидов) главным образом под действием АФГ, в том числе и НОС1, образующихся при функционировании галогенирующего цикла МПО [132, 169]. Будучи поликатионным белком, МПО связывается за счет электростатического взаимодействия с поверхностью ЛНП [231]. Один из возможных сайтов связывания находится в апо-В 100 и представляет собой аминокислотную последовательность $^{445}\text{E}^{\text{Q}}\text{I}^{\text{Q}}\text{D}^{\text{D}}\text{C}^{\text{T}}\text{G}^{\text{D}}\text{E}^{\text{D}}\text{E}^{\text{D}}\text{D}^{\text{456}}$, обогащенную отрицательно заряженными аминокислотными остатками [232]. Такое связывание МПО с ЛНП сближает фермент с мишенью и усугубляет модификацию компонентов поверхности ЛНП. НОС1, образующаяся в цикле галогенирования МПО, реагирует с функциональными группами аминокислотных остатков, в том числе с NH_2 -группами Lys, Arg, Gln с образованием свободных радикалов (см. раздел III, рис. 4). Проникая в липидную фазу поверхностного фосфолипидного монослоя [135], НОС1 инициирует свободнорадикальное ПОЛ, а также по молекулярному механизму присоединяется по ненасыщенным связям ацильных цепей с образованием хлоргидринов (см. раздел III, реакция (15)). В результате такой модификации ЛНП трансформируются в проатерогенную форму и интенсивно поглощаются субэндотелиальными клетками, что сопровождается накоплением внутриклеточного холестерина с образованием пенных клеток – важнейшего признака ранних стадий атеросклероза [37, 169, 233]. Подтверждением такого хода событий является тот факт, что у больных сердечно-сосудистыми заболеваниями в плазме крови, участках аорты, пораженной атеросклерозом, липопротеинах крови, сердечной ткани неоднократно обнаруживались биомаркеры галогенирующего стресса: белок, модифицированный НОС1, 3-хлортирозин, 5-хлорурацил, α -хлоральдегиды, хлоргидрины ацильных цепей липидов, способные образовываться в живом организме только в результате функционирования галогенирующего цикла ферментов группы пероксидаз млекопитающих, главным образом МПО (см. табл. 5).

МПО причастна к развитию заболеваний суставов: артритов и артрозов (табл. 5). Так было показано, что у больных ревматоидным

Таблица 5
Биомаркеры МПО/НОС1 в заболеваниях человека

(Принятые сокращения: ВЭЖХ – высоко эффективная жидкостная хроматография; ИГХ – иммуногистохимия; ИФА – иммуноферментный анализ; ЛВП – липопroteины высокой плотности; ЛНП – липопroteины низкой плотности; ЛОНП – липопroteины очень низкой плотности; GC/MS – хроматомасс-спектрометрия; LC/MS – ВЭЖХ-масс-спектрометрия; MS/MS – tandemная масс-спектрометрия; LC/MS/MS – tandemная ВЭЖХ-масс-спектрометрия; ESI/MS/MS – tandemная электроспрей-масс-спектрометрия; LC/ESI/MS/MS – tandemная ВЭЖХ-электроспрей-масс-спектрометрия)

Заболевание	Биомаркеры и признаки галогенирующего стресса	Где обнаружено (метод детектирования)
1	2	3
Атеросклероз	Повышение концентрации МПО	Атеросклеротическая бляшка (ИГХ, вестерн-блоттинг) [176]
		Атеросклеротическая бляшка (ВЭЖХ, вестерн-блоттинг) [177]
		Плазма крови (ИФА) [230]
		В комплексе с ЛНП и ЛОНП (ИФА) [231]
	3-Хлортирозин	Атеросклеротическая бляшка, ЛНП из пораженной аорты (GC/MS) [178]
		Интима аорты (GC/MS) [179]
		ЛВП плазмы крови (GC/MS) [180]
Белок, модифицированный НОС1	Аполипопротеин А-I в плазме крови и атеросклеротической бляшке (MS/MS) [181]	
	Атеросклеротическая бляшка (ИГХ) [176, 182]	
α-Хлоральдегиды (2-хлоргексадеканаль)	Подвздошная артерия: интима, медиа, адвентиция (ИГХ) [183]	
Хлоргидрины ацильных цепей липидов	Атеросклеротическая бляшка (GC/MS) [184]	
5-Хлорурацил	Атеросклеротическая бляшка (ESI/MS/MS) [185]	
Сердечно-сосудистые заболевания	Повышение концентрации и активности МПО	Атеросклеротическая бляшка (GC/MS) [186]
		Лейкоциты (пероксидазная активность лизата нейтрофилов) [187]) Кровь (ИФА) [187]
	Повышение концентрации МПО	Плазма крови (ИФА) [188–191]
		Сыворотка крови (ИФА) [192]
3-Хлортирозин	Аполипопротеин А-I, изолированный из ЛВП крови и аорты, пораженной атеросклерозом (LC/ESI/MS/MS) [193])	
	Плазма крови (ВЭЖХ) [194]	
	Гомогенат ткани предсердия (LC/ESI/MS/MS) [195]	
Васкулит	3-Хлортирозин	Моча (GC/MS) [196]

Продолжение табл. 5 см. на сл. стр.

Продолжение табл. 5

1	2	3
Ревматоидный артрит	3-Хлортирозин	Моча, синовиальная жидкость (GC/MS) [196–198]
	Повышение активности МПО	Синовиальная жидкость (пероксидазная активность МПО) [199]
	Повышение концентрации МПО	Плазма крови, синовиальная жидкость (ИФА) [198]
Остеоартроз	Повышение концентрации МПО; белок, модифицированный НОС1	Синовиальная жидкость (ИФА, LC/MS) [200]
Астма	3-Хлортирозин	Моча, бронхоальвеолярный лаваж (GC/MS) [201, 202]
Хроническая обструктивная болезнь легких	3-Хлортирозин; повышение активности МПО	Слюна (LC/MS/MS, пероксидазная активность МПО) [203]
Респираторная дисфункция недоношенных новорожденных	3-Хлортирозин	Трахеальный аспират (GC/MS) [204, 205]
Острая респираторная дисфункция	3-Хлортирозин	Бронхоальвеолярный лаваж (ВЭЖХ) [206, 207]
Муковисцидоз	3-Хлортирозин	Мокрота (GC/MS) [208], (¹ H NMR, 500 MHz) [209]
Муковисцидоз (у детей)	3-Хлортирозин	Бронхоальвеолярный лаваж (GC/MS) [210]
	Сульфонамид глутатиона	Бронхоальвеолярный лаваж (LC/ESI/MS/MS) [211]
Аллергический грануломатоз Черга-Штраусса	3-Хлортирозин	Моча (GC/MS) [196]
Острая почечная недостаточность при хроническом гемодиализе	3-Хлортирозин	Плазма крови (GC/MS) [212]

Окончание табл. 5 см. на сл. стр.

Окончание табл. 5

1	2	3
Воспаление почек (интерстициальный нефрит, нефросклероз, фокально-сегментарный гломерулосклероз)	Белок, модифицированный НОС1	Биоптат почечной ткани (ИГХ, вестерн-блоттинг) [213]
Токсико-аллергический дерматоз (синдром Лайелла)	3-Хлортирозин	Лимфоцитарный инфильтрат пораженных участков кожи (пузырей) (LC/ESI/MS/MS) [214]
Болезнь Альцгеймера	Экспрессия МПО	Астроциты (конфокальная флуоресцентная микроскопия, ИГХ) [215]
	3-Хлортирозин	Гиппокамп (GC/MS) [216]
Рассеянный склероз	Экспрессия МПО	Микроглия (ИГХ) [217]
Болезнь Хантингтона	Повышение соотношения МПО/лейкоциты	Кровь (ИФА) [218]
Болезнь Паркинсона	Экспрессия МПО	Ткань мозга (ИГХ) [219]
Воспаление	5-Хлорурацил	Обогащенная нейтрофилами ткань из очага воспаления человека (GC/MS) [220]
Инфицированные недоношенные новорожденные	Сульфонамид глутатиона	Трахеальный аспират (LC/MS/MS) [205]
ВИЧ-инфекция	Повышение концентрации МПО	Сыворотка крови (ИФА) [221]
Сепсис	Повышение активности МПО	Плазма крови (пероксидазная активность МПО) [222]
Язвенный колит	Повышение концентрации МПО	Фекалии (ИФА) [223, 224]
Гепатоцеллюлярный рак печени при хроническом гепатите С	Повышение концентрации МПО	Плазма крови (ИФА) [225]
Колоректальный рак	Повышение концентрации МПО	Фекалии (ИФА) [226]
		Колоректальная карцинома (ИГХ) [227]
Рак яичников	Повышение концентрации МПО	Сыворотка/плазма крови (ИФА) [228, 229]
Рак яичников, эндометриальный, лейомиома	Повышение концентрации МПО	Плазма крови (ИФА) [229]
		Опухолевая ткань (ИГХ) [229]

артритом в плазме повышается концентрация МПО [198], в моче и синовиальной жидкости обнаруживается 3-хлортирозин [196–198], причем, содержание 3-хлортирозина в синовиальной жидкости увеличивается с ростом в ней концентрации МПО [198]. Помимо этого, в синовиальной жидкости повышается активность МПО [198, 199], что коррелирует с признаками поражения соединительной ткани суставного хряща под действием НОС1 [199]. При остеоартрозе в синовиальной жидкости повышается концентрация МПО и обнаруживаются белки, модифицированные НОС1 [200]. Предполагается, что при развитии воспалительной реакции в синовиальной жидкости активированные лейкоциты высвобождают МПО. Образующаяся в МПО-зависимых реакциях НОС1 провоцирует окислительный/галогенирующий стресс, что вызывает повреждение углеводных компонентов хрящевой ткани суставных поверхностей, способствуя размягчению, изъятию и уменьшению толщины суставного хряща.

Заболевания органов дыхания также ассоциируют с повышением активности МПО. Биомаркер НОС1 – 3-хлортирозин был обнаружен в моче и бронхоальвеолярном лаваже больных астмой [201, 202], в слюне при хронической обструктивной болезни легких [203], в трахеальном аспирате недоношенных новорожденных с респираторной дисфункцией [204, 205], в бронхоальвеолярном лаваже при острой респираторной недостаточности [206, 207], при муковисцидозе в мокроте [208] и бронхоальвеолярном лаваже [209, 210]. Повышенная активность МПО обнаружена также в слюне при хронической обструктивной болезни легких [203]. Сульфонамид глутатиона – продукт окисления глутатиона под действием НОС1 – был обнаружен в бронхоальвеолярном лаваже у детей, страдающих муковисцидозом [211]. В том случае, когда болезнь легких сопровождалась аллергическими проявлениями, у больных помимо 3-хлортирозина, как правило, обнаруживали биомаркер НОВг – 3-бромтирозин [196, 201, 202, 209, 210]. Это обусловлено тем обстоятельством, что при аллергии значительно увеличивается количество эозинофилов в крови человека, и секретируемая из них ЭПО преимущественно катализирует окисление Вг⁻ до НОВг [11, 12], который и бромтирует Туг с образованием 3-бромтирозина [234].

Почечная недостаточность, сопровождающаяся воспалением, связана с развитием иммунной реакции, повышением концентрации антител и иммунных комплексов в фильтрующей системе почек, миграцией нейтрофилов, их активацией и секрецией активной МПО. Фактором, усиливающим повреждающее действие фермента в почках, является повышенное средство катионной МПО к гломерулярной

базальной мембране, обогащенной кислыми сиалогликопротеинами и протеогликанами (гепарин сульфатами). Участие МПО в прогрессирующей почечной недостаточности подтверждается развитием аутоиммунной реакции с повышением титра антител против МПО (МПО-ANCA) у пациентов. Заболевания почек также характеризуются наличием 3-хлортирозина в плазме крови [212] или белка, модифицированного НОС1, в биоптате почечной ткани [213], свидетельствуя о причастности МПО к воспалению почек.

В последнее время большое внимание уделяется роли МПО и АФГ в развитии нейродегенеративных заболеваний: болезни Альцгеймера, Хантингтона, Паркинсона, рассеянного склероза и др. [235]. Показано, что при болезни Альцгеймера [215] и рассеянном склерозе [217] наблюдается повышенная экспрессия МПО астроцитами и микроглией соответственно. Участие МПО в развитии этих нейродегенеративных заболеваний подтверждается наличием раннего рассеянного склероза и болезни Альцгеймера у носительниц G аллеля в случае полиморфизма -463G/A, ассоциированного с повышенной экспрессией МПО у женщин. Экспрессия МПО зарегистрирована также в вентральной части среднего мозга больных болезнью Паркинсона [219]. Тирозильные радикалы и активные формы азота обнаружены в нейронах, пораженных нейротоксином МРТР, используемым для моделирования болезни Паркинсона. В крови больных болезнью Хантингтона обнаружено повышение соотношения МПО/лейкоциты [218]. В гиппокампе пациентов, страдающих болезнью Альцгеймера, выявлен 3-хлортирозин [216]. Нейропротекторное действие десфероксамина и мочевой кислоты можно объяснить, в том числе, их способностью перехватывать НОС1 [236–238], что свидетельствует в пользу участия НОС1 в нейродегенеративных расстройствах. Эти и другие результаты указывают на то, что секреция МПО микроглией и другими макрофагальными клетками мозга может приводить к НОС1-индуцированной гибели нейронов, способствуя развитию нейродегенеративных заболеваний [235].

Многочисленные инфекционные заболевания также имели признаки галогенирующего стресса. Так в трахеальном аспирате инфицированных недоношенных детей был обнаружен маркер НОС1 – сульфонамид глутатиона [205]. Повышенная концентрация МПО была выявлена в сыворотке крови у носителей ВИЧ-инфекции [221], в фекалиях при язвенном колите [223, 224]. Активность МПО повышалась в плазме крови при сепсисе [222]. Обогащенная нейтрофилами ткань из очага воспаления человека содержала 5-хлорурацил – маркер НОС1-индуцированного повреждения нуклеиновых кислот [220].

В настоящее время считается, что около 20% всех смертей от рака ассоциировано с хронической инфекцией и воспалением [239]. МПО – важнейший участник воспалительного процесса. Как показано в разделе III, НОС1, образуемая в МПО-зависимых реакциях, может напрямую реагировать с нуклеотидами с образованием свободных радикалов, способствуя мутагенезу [240]. Вот почему в последнее время активно дискутируется вопрос об участии МПО и АФГ в патогенезе онкологических заболеваний. Как показали исследования, проведенные иммуноферментным или иммуногистохимическим методами, было выявлено повышение концентрации МПО: в сыворотке/плазме крови при раке яичников [228], гинекологическом раке [229], гепатоцеллюлярном раке печени при хроническом гепатите С [225]. При колоректальном раке концентрация МПО повышалась в фекалиях [226] и опухолевой ткани [227]. В опухолевой ткани повышение концентрации МПО было установлено также при различных разновидностях гинекологического рака (яичников, эндометриальный, лейомиома) [239]. Эти и другие результаты указывают в пользу возможного участия МПО/НОС1 в патогенезе онкологических заболеваний.

Приведенные здесь примеры – это лишь небольшая часть результатов, свидетельствующих о возможности участия АФГ, в том числе и НОС1, образующихся в живом организме, в развитии целого ряда заболеваний человека, как правило, сопровождающихся воспалительной реакцией организма. Однако следует иметь в виду, что НОС1 реагирует практически со всеми биологически важными молекулами не только по радикальному, но и по молекулярному механизму, без образования свободнорадикальных интермедиатов, о чем подробно изложено в ряде обзоров [19, 57, 97, 169, 170, 241, 242]. Возникает вопрос: насколько велик вклад свободнорадикальных реакций с участием НОС1 по сравнению с молекулярными реакциями в повреждение биомолекул, белок-липидных структур, клеток и развитие окислительного/галогеенирующего стресса?

Попробуем ответить на этот вопрос на примере реакций НОС1 с ненасыщенными липидами (см. раздел III). Если судить по количеству образующихся продуктов и задействованных функциональных групп, то можно полагать, что это – молекулярный механизм, поскольку концентрация образующихся по реакции (15) хлоргидринов (особенно в экспериментах *in vitro* [112, 148, 242]) значительно превышает концентрацию регистрируемых продуктов ПОЛ [122, 127, 131, 132, 150]. Действительно, в реакциях ПОЛ, каким бы образом они не инициировались (НОС1 [131, 133], МПО+Н₂О₂+СГ [132, 134],

активированные нейтрофилы/моноциты [243], Fe²⁺-аскорбат [127] и др.), как правило, вовлекается лишь незначительная доля ненасыщенных липидов, а уровень регистрируемых продуктов на несколько порядков ниже концентрации двойных связей – субстрата ПОЛ [123, 150]. Тем не менее, как известно, реакции ПОЛ приводят к существенным изменениям в липидной фазе биологических мембран и других белок-липидных структур, вызывая развитие целого ряда, так называемых «свободнорадикальных патологий» [7, 244]. Думается, что и в случае МПО/АФГ-индуцированного развития окислительного/галогенирующего стресса возникающие в реакциях АФГ с биологически важными молекулами свободнорадикальные интермедиаты вносят существенный вклад в развитие упомянутых выше социально-значимых заболеваний.

V. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

НОСІ – важнейшая активная форма хлора, образующаяся в живом организме в результате функционирования цикла галогенирования МПО. Эта молекула обладает высокой реакционной способностью и вступает в реакции со всеми основными биологически важными молекулами: белками, липидами, нуклеиновыми кислотами, углеводами и др. Многие из этих реакций протекают с образованием свободнорадикальных интермедиатов. Пожалуй, важнейшей реакцией, приводящей к образованию свободных радикалов, можно считать реакцию с амино-группой, поскольку она содержится во всех без исключения выше перечисленных классах биологически важных соединений. Хлорирование NH₂-группы и последующее образование радикалов при распаде хлорамина приводит к деградации белков, инактивации ферментов, деструкции углеводсодержащих биополимеров, денатурации нуклеиновых кислот, способствует пероксидации липидов. НОСІ-зависимые реакции призваны решать *in vivo* двоякую роль. С одной стороны, во многом именно благодаря им нейтрофилы в очаге воспаления осуществляют свою бактерицидную функцию. С другой – эти реакции становятся причиной повреждения надмолекулярных структур и клеток организма-хозяина, что зачастую провоцирует возникновение окислительного/галогенирующего стресса и способствует развитию различных заболеваний, ассоциированных с воспалением. Эти заболевания, как правило, характеризуются повышением в крови или очаге поражения концентрации и/или активности МПО, а также присутствием биомаркеров этого фермента – индикаторов галогенирующего стресса. Становится очевидным, что

важнейшей задачей в борьбе с заболеваниями, ассоциированными с галогенирующим стрессом, является регуляция активности МПО. Как сделать так, чтобы функционирование МПО в очаге воспаления преимущественно было направлено на уничтожение патогена, «сворачивание» воспалительной реакции, а не на перевод ее в хроническую форму? В настоящее время уже можно назвать некоторых претендентов на роль природных регуляторов активности МПО. Так, например, «кислый» белок острой фазы воспаления – церулоплазмин (pI = 4,7) – образует комплексы с МПО (pI > 10), ингибируя при этом ее как хлорирующую, так и пероксидазную активности [245, 246]. Некоторые субстраты пероксидазного цикла МПО, например Trp, способны переводить фермент в соединение II (рис. 1) – состояние неактивное для работы галогенирующего цикла, результатом чего является снижение галогенирующей активности МПО [247]. Другая ароматическая аминокислота – Tug, напротив, быстро переводит соединение II МПО в нативную форму фермента, регенерируя его хлорирующую активность [248]. Подобным действием обладает и NO, функциональная связь этой сигнальной молекулы с МПО подчеркивается их колокализацией с индуцибельной NO-синтазой в нейтрофилах [249]. Важным модулятором активности МПО является O_2^- [250]. Регулировать активность фермента удастся и путем изменения pH среды [251]. В связи с этим, перспективным представляется развитие исследований, направленных на выяснение механизмов регуляции активности ферментативных систем, ответственных за образование АФГ в организме (МПО и ЭПО), разработку чувствительных методов определения низких концентраций самих МПО и ЭПО, а также их биомаркеров. Проведение таких исследований позволит в перспективе разработать принципиально новые подходы и методы, направленные на профилактику, диагностику и своевременное предупреждение развития галогенирующего стресса и ассоциированных с ним провоспалительных заболеваний человека.

ЛИТЕРАТУРА

1. Владимиров Ю.А. (1998) Вестн. Рос. Акад. Мед. Наук, №7, 43–51.
2. Morris, J.C. (1966) J. Phys. Chem., **70**, 3798–3805.
3. Панасенко О.М., Сергиенко В.И. (2010) Вестн. Рос. Акад. Мед. Наук, №1, 27–39.
4. Edwards, S.W. Biochemistry and physiology of the neutrophil. (1994) Cambridge-New York-Melbourn: Cambridge University Press. 299 p.
5. Schultz, J., Kaminker, K. (1962) Arch. Biochem. Biophys., **96**, 465–467.
6. Deby-Dupont, G., Deby, C., Lamy, M. (1999) Intensivmed., **36**, 500–513.
7. Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. Free radical in biology and medicine. (1999) Oxford University Press. 936 p.
8. Carlson, M.G., Peterson, C.G., Venge, P. (1985) J. Immunol., **134**, 1875–1879.
9. Gienbycz, M.A., Lindsay, M.A. (1999) Pharmacol. Rev., **51**, 213–340.
10. Sakamaki, K., Tomonaga, M., Tsukui, K., Nagata, S. (1989) J. Biol. Chem., **264**, 16828–16836.
11. Furtmüller, P.G., Burner, U., Obinger, C. (1998) Biochemistry, **37**, 17923–17930.
12. Furtmüller, P.G., Jantschko, W., Zederbauer, M., Jakopitsch, C., Arnold, J., Obinger, C. (2004) Jpn. J. Infect. Dis., **57**, S30–S31.
13. Kussendrager, K.D., van Hooijdonk, A.C. (2000) Br. J. Nutr., **84**, Suppl. 1, S19–S25.
14. Ruf, J., Carayon, P. (2006) Arch. Biochem. Biophys., **445**, 269–277.
15. Marquez, L.A., Huang, J.T., Dunford, H.B. (1994) Biochemistry, **33**, 1447–1454.
16. Kettle, A.J., Winterbourn, C.C. (1997) Redox Report, **3**, 3–15.
17. Kettle, A.J., Sangster, D.F., Gebicki, J.M., Winterbourn, C.C. (1988) Biochim. Biophys. Acta, **956**, 58–62.
18. Арнхольд Ю. (2004) Биохимия, **69**, 8–15.
19. Панасенко О.М., Арнхольд Ю., Сергиенко В.И. (2002) Биол. мембраны, **19**, 403–434.
20. Weiss, S.J., Klein, R., Slivka, A., Wei, M. (1982) J. Clin. Invest., **70**, 598–607.
21. Foote, C.S., Goynes, T.E., Lehrer, R.I. (1983) Nature, **301**, 715–716.
22. Furtmüller, P.G., Burner, U., Regelsberger, G., Obinger, C. (2000) Biochemistry, **39**, 15578–15584.
23. Маянский А.Н., Маянский Д.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге. (1983) Новосибирск: Наука. 256 с.
24. Земсков В.М. (1984) Успехи соврем. биол., **98**, 219–233.
25. Горудко И.В., Черкалина О.С., Соколов А.В., Пулина М.О., Захарова Е.Т., Васильев В.Б., Черенкевич С.Н., Панасенко О.М. (2009) Биоорг. химия, **35**, 629–639.
26. Baldus, S., Heeschen, C., Meinertz, T., Zeiher, A. M., Eiserich, J. P., Münzel, T., Simoons, M. L., Hamm, C.W. (2003) Circulation, **108**, 1440–1445.
27. Weiss, S.J. (1989) N. Engl. J. Med., **320**, 365–376.
28. Pryor, W.A. (1986) Annu. Rev. Physiol., **48**, 657–667.
29. Long, C.A., Bielski, B.H.J. (1980) J. Phys. Chem., **84**, 555–557.
30. Candeias, L.P., Stratford, M.R., Wardman, P. (1994) Free Radic. Res., **20**, 241–249.
31. Козлов Ю.Н., Моравский А.П., Пурмаль А.П., Шувалов В.Ф. (1981) Журнал физич. химии, **55**, 764–766.
32. Якутова Э.Ш., Дремина Е.С., Евгина С.А., Осипов А.Н., Шаров В.С., Панасенко О.М., Владимиров Ю.А. (1994) Биофизика, **39**, 275–279.

33. Осипов А.Н., Якутова Э.Ш., Владимиров Ю.А. (1993) Биофизика, **38**, 390–396.
34. Сычев А.Я., Исаак В.Г. (1995) Успехи химии, **64**, 1183–1209.
35. Prütz, W.A. (1996) Arch. Biochem. Biophys, **332**, 110–120.
36. Казан В.Е., Орлов О.Н., Прилипко Л.Л. Проблема анализа эндогенных продуктов перекисного окисления липидов. Итоги Науки и Техники, сер. Биофизика, том 18. (1986) Москва: ВИНТИ, 135 с.
37. Panasenko, O.M., Briviba, K., Klotz, L.-O., Sies, H. (1997) Arch. Biochem. and Biophys., **343**, 254–259.
38. Johnson, D.W., Margerum, D.W. (1991) Inorg. Chem., **30**, 4845–4851.
39. Eiserich, J.P., Cross, C.E., Jones, A.D., Halliwell, B., van der Vliet, A. (1996) J. Biol. Chem., **271**, 19199–19208.
40. Byun, J., Mueller, M., Fabjan, J.S., Heinecke, J.W. (1999) FEBS Lett., **455**, 243–246.
41. Ghibaudi, E., Barker, J.R., Benson, S.W. (1979) Int. J. Chem. Kinet., **11**, 843–851.
42. Pattison, D.I., Davies, M.J. (2001) Chem. Res. Toxicol., **14**, 1453–1464.
43. Hawkins, C.L., Davies, M.J. (1998) J. Chem. Soc. Perkin Trans., **2**, 1937–1945.
44. Zgliczyński, J.M., Stelmaszyńska, T., Domański, J., Ostrowski, W. (1971) Biochim. Biophys. Acta, **235**, 419–424.
45. Zgliczyński, J.M., Stelmaszyńska, T., Ostrowski, W., Naskalski, J., Sznajd, J. (1968) Eur. J. Biochem., **4**, 540–547.
46. Clark, R.A., Szot, S., Williams, M.A., Kagan, H.M. (1986) Biochem. Biophys. Res. Commun., **135**, 451–457.
47. Hazell, L.J., van den Berg, J.J., Stocker, R. (1994) Biochem J., **302**, 297–304.
48. Hazen, S.L., d'Avignon, A., Anderson, M.A., Hsu, F.F., Heinecke, J.W. (1998) J. Biol. Chem., **273**, 4997–5005.
49. Hazen, S.L., Hsu, F.F., d'Avignon, A., Heinecke, J.W. (1998) Biochemistry, **37**, 6864–6873.
50. Hawkins, C.L., Davies, M.J. (2005) Free Radic. Biol. Med., **39**, 900–912.
51. Hawkins, C.L., Davies, M.J. (1998) Biochem. J., **332**, 617–625.
52. Hawkins, C.L., Davies, M.J. (2001) Biochim. Biophys. Acta, **1504**, 196–219.
53. Davies, J.M., Horwitz, D.A., Davies, K.J. (1993) Free Radic. Biol. Med., **15**, 637–643.
54. Davies, M.J., Hawkins, C.L. (2000) Free Rad. Res, **33**, 719–729.
55. Pattison, D.I., Hawkins, C.L., Davies, M.J. (2007) Biochemistry, **46**, 9853–9864.
56. Thomas, E.L. (1979) Infect. Immun., **23**, 522–531.
57. Hawkins, C.L., Pattison, D.I., Davies, M.J. (2003) Amino Acids, **25**, 259–274.
58. Baker, R.W.R. (1947) Biochem. J., **41**, 337–342.
59. Drozd, R., Guevara, I., Naskalski, J.W. (1995) Clin. Chem. Acta, **236**, 155–160.
60. Sharonov, B.P., Govorova, N.I., Lyzlova, S.N. (1989) Biochem. Int., **19**, 27–35.
61. Bergt, C., Marsche, G., Panzenboeck, U., Heinecke, J.W., Malle, E., Sattler, W. (2001) Eur. J. Biochem., **268**, 3523–3531.
62. Hawkins, C.L., Davies, M.J. (1999) Biochem. J., **340**, 539–548.
63. Matheson, N.R., Travis, J. (1985) Biochemistry, **24**, 1941–1945.
64. Aruoma, O.I., Halliwell, B. (1987) Biochem. J., **248**, 973–976.
65. Шаронов Б.П., Чурилова И.В. (1990) Докл. АН СССР, **314**, 1500–1502.

66. Sharonov, B.P., Churilova, I.V. (1992) Biochem. Biophys. Res. Commun., **189**, 1129–1135.
67. Mashino, T., Fridovich, I. (1988) Biochim. Biophys. Acta, **953**, 63–69.
68. Vissers, M.C., Winterbourn, C.C. (1987) Biochem. J., **245**, 277–280.
69. Floris, R., Wever, R. (1992) Eur. J. Biochem., **207**, 697–702.
70. Stark, J.A., Henderson, A.R. (1993) Clin. Chem., **39**, 986–992.
71. Terada, L.S., Beehler, C.J., Banerjee, A., Brown, J.M., Grosso, M.A., Harken, A.H., McCord, J.M., Repine, J.E. (1988) J. Appl. Physiol., **65**, 2349–2353.
72. Albrich, J.M., McCarthy, C.A., Hurst, J.K. (1981) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **78**, 210–214.
73. Hawkins, C.L., Davies, M.J. (2005) Chem. Res. Toxicol., **18**, 1669–1677.
74. Hawkins, C.L., Davies, M.J. (2005) Chem. Res. Toxicol., **18**, 1600–1610.
75. Dai, J., Meij, J.T.A., Padua, R., Panagia, V. (1992) Circ. Res., **71**, 970–977.
76. Kukreja, R.C., Weaver, A.B., Hess, M.L. (1990) Am. J. Physiol., **259**, H1330–H1336.
77. Matsuoka, T., Kato, M., Kako, K.J. (1990) Basic. Res. Cardiol., **85**, 330–341.
78. Kukreja, R.C., Weaver, A.B., Hess, M.L. (1989) Biochim. Biophys. Acta, **990**, 198–205.
79. van Rensburg, C.E., van Staden, A.M. (1991) Free Radic. Biol. Med., **11**, 285–291.
80. Горбатенкова Е.А., Науменко К.В., Сергиенко В.И. (1991) Электрохимические методы в медицине. М.: НИИ ФХМ МЗ РСФСР, 5–6.
81. Wasil, M., Halliwell, B., Hutchison, D.C., Baum, H. (1987) Biochem. J., **243**, 219–223.
82. Winterbourn, C.C. (1985) Biochim. Biophys. Acta, **840**, 204–210.
83. Bouriche, H., Salavei, P., Lessig, J., Arnhold, J. (2007) Arch. Biochem. Biophys., **459**, 137–142.
84. Chatham, W.W., Blackburn, W.D. Jr., Heck, L.W. (1992) Biochem. Biophys. Res. Commun., **184**, 560–567.
85. Saari, H., Sorsa, T., Lindy, O., Suomalainen, K., Halinen, S., Kontinen, Y.T. (1992) Int. J. Tissue React., **14**, 113–120.
86. Peppin, G.J., Weiss, S.J. (1986) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **83**, 4322–4326.
87. Michaelis, J., Vissers, M.C., Winterbourn, C.C. (1992) Arch. Biochem. Biophys., **292**, 555–562.
88. Weiss, S.J., Peppin, G., Ortiz, X., Ragsdale, C., Test, S.T. (1985) Science, **227**, 747–749.
89. Vissers, M.C., Winterbourn, C.C. (1991) Arch. Biochem. Biophys., **285**, 53–59.
90. Prütz, W.A. (1998) Arch. Biochem. Biophys., **349**, 183–191.
91. Hawkins, C.L., Davies, M.J. (2001) Chem. Res. Toxicol., **14**, 1071–1081.
92. Hawkins, C.L., Davies, M.J. (2002) Chem. Res. Toxicol., **15**, 83–92.
93. Hawkins, C.L., Pattison, D.I., Davies, M.J. (2002) Biochem. J., **365**, 605–615.
94. Gomez-Mejiba, S.E., Zhai, Z., Gimenez, M.S., Ashby, M.T., Chilakapati, J., Kitchin, K., Mason, R.P., Ramirez, D.C. (2010) J. Biol. Chem., **285**, 20062–20071.
95. McGowan, S.E., Thompson, R.J. (1989) J. Appl. Physiol., **66**, 400–409.
96. McGowan, S.E. (1990) Am. J. Respir. Cell Mol. Biol., **2**, 271–279.
97. Pattison, D.I., Davies, M.J. (2006) Current Medicinal Chemistry, **13**, 3271–3290.
98. Rees, M.D., Pattison, D.I., Davies, M.J. (2005) Biochem. J., **391**, 125–134.
99. Hawkins, C.L., Davies, M.J. (1998) Free Radic. Biol. Med., **24**, 1396–1410.

100. Rees, M.D., Hawkins, C.L., Davies, M.J. (2003) *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 13719–13733.
101. Rees, M.D., Hawkins, C.L., Davies, M.J. (2004) *Biochem. J.*, **381**, 175–184.
102. Rees, M.D., Davies, M.J. (2006) *J. Am. Chem. Soc.*, **128**, 3085–3097.
103. Rychly, J., Syoltes, L., Stankovska, M., Janigova, I., Csomorova, K., Sasinkova, V., Kogan, G., Gemeiner, P. (2006) *Polym. Degrad. Stab.*, **91**, 3174–3184.
104. Syoltes, L., Kogan, G., Stankovska, M., Mendichi, R., Rychly, J., Schiller, J., Gemeiner, P. (2007) *Biomacromolecules*, **8**, 2697–2705.
105. Woods, A.A., Davies, M.J. (2003) *Biochem. J.*, **376**, 219–227.
106. Heinecke, J.W. (1999) *J. Lab. Clin. Med.*, **133**, 321–325.
107. Baskol, G., Demir, H., Baskol, M., Kilic, E., Ates, F., Karakukcu, C., Ustidal, M. (2006) *Cell Biochem. Funct.*, **24**, 307–311.
108. Wu, W., Samoszuk, M.K., Comhair, S.A.A., Thomassen, M.J., Farver, C.F., Dweik, R.A., Kavuru, M.S., Erzurum, S.C., Hazen, S.L. (2000) *J. Clin. Invest.*, **105**, 1455–1463.
109. Andreadis, A.A., Hazen, S.L., Comhair, S.A.A., Erzurum, S.C. (2003) *Free Radic. Biol. Med.*, **35**, 213–225.
110. Панасенко О.М., Арнхольд Ю., Сергиенко В.И., Арнольд К., Владимиров Ю.А. (1996) *Биол. мембраны*, **13**, 271–281.
111. Carr, A.C., Winterbourn, C.C., van den Berg, J.J. (1996) *Arch. Biochem. Biophys.*, **327**, 227–233.
112. Winterbourn, C.C., van den Berg, J.J., Roitman, E., Kuypers, F.A. (1992) *Arch. Biochem. Biophys.*, **296**, 547–555.
113. Arnhold, J., Panasenکو, O.M., Schiller, J., Vladimirov, Yu.A., Arnold, K. (1995) *Chem. Phys. Lipids*, **78**, 55–64.
114. Панасенко О.М., Арнхольд Ю., Владимиров Ю.А., Арнольд К., Сергиенко В.И. (1995) *Биофизика*, **40**, 1234–1242.
115. Panasenکو, O.M., Arnhold, J., Vladimirov, Yu.A., Arnold, K., Sergienko, V.I. (1997) *Free Rad. Res.*, **27**, 1–12.
116. Arnhold, J., Osipov, A.N., Spalteholz, H., Panasenکو, O.M., Schiller, J. (2001) *Free Radic. Biol. Med.*, **31**, 1111–1119.
117. Панасенко О.М., Осипов А.Н., Шиллер Ю., Арнхольд Ю. (2002) *Биохимия*, **67**, 1071–1084.
118. Pattison, D.I., Hawkins, C.L., Davies, M.J. (2003) *Chem. Res. Toxicol.*, **16**, 439–449.
119. Prütz, W.A. (1998) *Arch. Biochem. Biophys.*, **357**, 265–273.
120. Spalteholz, H., Wenske, K., Arnhold, J. (2005) *BioFactors*, **24**, 67–76.
121. Чеканов А.В., Осипов А.Н., Владимиров Ю.А., Сергиенко В.И., Панасенко О.М. (2007) *Биофизика*, **52**, 5–13.
122. Panasenکو, O.M., Arnhold, J., Schiller, J., Arnold, K., Sergienko, V.I. (1994) *Biochim. Biophys. Acta*, **1215**, 259–266.
123. Панасенко О.М., Арнхольд Ю. (1996) *Биол. мембраны*, **13**, 89–99.
124. Skaff, O., Pattison, D.I., Davies, M.J. (2007) *Chem. Res. Toxicol.*, **20**, 1980–1988.
125. Панасенко О.М., Шпальтехольц Г., Шиллер Ю., Арнхольд Ю. (2006) *Биохимия*, **71**, 707–718.
126. Stelmazynska, T., Kukovetz, E., Egger, G., Schaur, R.J. (1992) *Int. J. Biochem.*, **24**, 121–128.
127. Панасенко О.М., Арнхольд Ю., Арнольд К., Владимиров Ю.А., Сергиенко В.И. (1996) *Биофизика*, **41**, 334–341.
128. Panasenکو, O.M. (1997) *BioFactors*, **6**, 181–190.

129. *Noguchi, N., Nakada, A., Itoh, Y., Watanabe, A., Niki, E.* (2002) *Arch. Biochem. Biophys.*, **397**, 440–447.
130. *Kawai, Y., Kiyokawa, H., Kimura, Y., Kato, Y., Tsuchiya, K., Terao, J.* (2006) *Biochemistry*, **45**, 14201–14211.
131. *Евгина С.А., Панасенко О.М., Сергиенко В.И., Владимиров Ю.А.* (1992) *Биол. мембраны*, **9**, 946–953.
132. *Panasenko, O.M., Evgina, S.A., Aidyraliev, R.K., Sergienko, V.I., Vladimirov, Yu.A.* (1994) *Free Radic. Biol. Med.*, **16**, 143–148.
133. *Panasenko, O.M., Evgina, S.A., Driomina, E.S., Sharov, V.S., Sergienko, V.I., Vladimirov, Yu.A.* (1995) *Free Radic. Biol. Med.*, **19**, 133–140.
134. *Panasenko, O.M., Arnhold, J.* (1999) *Free Rad. Res.*, **30**, 479–487.
135. *Панасенко О.М., Евгина С.А., Сергиенко В.И.* (1993) *Бюл. эксперим. биологии и медицины*, **115**, 358–360.
136. *Панасенко О.М., Панасенко О.О., Бривиба К., Сус Г.* (1997) *Биохимия*, **62**, 1332–1338.
137. *Arnhold, J., Müller, S., Arnold, K., Grimm, E.* (1991) *J. Biolumin. Chemilumin.*, **6**, 189–192.
138. *Held, A.M., Halko, D.J., Hurst, J.K.* (1978) *J. Am. Chem. Soc.*, **100**, 5732–5740.
139. *Folkes, L.K., Candeias, L.P., Wardman, P.* (1995) *Arch. Biochem. Biophys.*, **323**, 120–126.
140. *Candeias, L.P., Patel, K.B., Stratford, M.R., Wardman, P.* (1993) *FEBS Lett.*, **333**, 151–153.
141. *Osipov, A.N., Panasenko, O.M., Chekanov, A.V., Arnhold, J.* (2002) *Free Rad. Res.*, **36**, 749–754.
142. *Панасенко О.М., Осипов А.Н., Чеканов А.В., Арнхольд Ю., Сергиенко В.И.* (2002) *Биохимия*, **67**, 1061–1070.
143. *Чеканов А.В., Панасенко О.М., Осипов А.Н., Арнхольд Ю., Казаринов К.Д., Владимиров Ю.А., Сергиенко В.И.* (2002) *Биофизика*, **47**, 787–794.
144. *Чеканов А.В., Панасенко О.М., Осипов А.Н., Матвеева Н.С., Казаринов К.Д., Владимиров Ю.А., Сергиенко В.И.* (2005) *Биофизика*, **50**, 13–19.
145. *Панасенко О.М., Чеканов А.В., Арнхольд Ю., Сергиенко В.И., Осипов А.Н., Владимиров Ю.А.* (2005) *Биохимия*, **70**, 1209–1217.
146. *Чеканов А.В., Осипов А.Н., Владимиров Ю.А., Сергиенко В.И., Панасенко О.М.* (2006) *Биол. мембраны*, **23**, 426–432.
147. *Miyamoto, S., Martinez, G.R., Rettori, D., Augusto, O., Medeiros, M.H.G., Di Mascio, P.* (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 293–298.
148. *Arnhold, J., Panasenko, O.M., Schiller, J., Arnold, K., Vladimirov, Yu.A., Sergienko, V.I.* (1996) *Z. Naturforsch.*, **51c**, 386–394.
149. *Панасенко О.М., Арнхольд Ю., Шиллер Ю.* (1997) *Биохимия*, **62**, 1111–1121.
150. *Rice-Evans, C., Leake, D., Bruckdorfer, K.R., Diplock, A.T.* (1996) *Free Rad. Res.*, **25**, 285–311.
151. *Hazell, L.J., Davies, M.J., Stocker, R.* (1999) *Biochem. J.*, **339**, 489–495.
152. *Girotti, A.W.* (1998) *J. Lipid Res.*, **39**, 1529–1542.
153. *Freeman, B.A., Sharman, M.C., Mudd, L.* (1979) *Arch. Biochem. Biophys.*, **197**, 264–272.
154. *Nelson, M.J., Seitz, S.P.* (1994) *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **4**, 878–884.
155. *Kuhn, H., Chaitidis, P., Roffeis, J., Walther, M.* (2007) *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **50**, 609–620.
156. *Сергиенко В.И., Панасенко О.М., Мурина М.А.* (1999) *Эфферентная терапия*, **5**, №4, 8–17.

157. Heinecke, J.W., Li, W., Mueller, D.M., Bohrer, A., Turk, J. (1994) *Biochemistry*, **33**, 10127–10136.
158. Carr, A.C., Winterbourn, C.C., Blunt, J.W., Philipps, A.J., Abell, A.D. (1997) *Lipids*, **32**, 363–367.
159. Hazen, S.L., Hsu, F.F., Duffin, K., Heinecke, J.W. (1996) *J. Biol. Chem.*, **271**, 23080–23088.
160. Carr, A.C., van den Berg, J.J., Winterbourn, C.C. (1996) *Arch. Biochem. Biophys.*, **332**, 63–69.
161. van den Berg, J.J., Winterbourn, C.C., Kuypers, F.A. (1993) *J. Lipid Res.*, **34**, 2005–2012.
162. Iuliano, L. (2011) *Chem. Phys. Lipids*, **164**, 457–468.
163. Panasenko, O.M., Vakhrusheva, T., Tretyakov, V., Spalteholz, H., Arnhold, J. (2007) *Chem. Phys. Lipids*, **149**, 40–51.
164. Arnhold, J., Osipov, A.N., Spalteholz, H., Panasenko, O.M., Schiller, J. (2002) *Biochim. Biophys. Acta*, **1572**, 91–100.
165. Carr, A.C., van den Berg, J.J., Winterbourn, C.C. (1998) *Biochim. Biophys. Acta*, **1392**, 254–264.
166. Richter, G., Schober, C., Süß, R., Fuchs, B., Birkemeyer, C., Schiller, J. (2008) *Anal. Biochem.*, **376**, 157–159.
167. Кулинский В.И. (1999) *Соросовский образовательный журнал*, №1, 2–7.
168. Владимиров Ю.А. (2002) *Биол. мембраны*, **19**, 356–377.
169. Malle, E., Marsche, G., Arnhold, J., Davies, M.J. (2006) *Biochim. Biophys. Acta*, **1761**, 392–415.
170. Klebanoff, S.J. (2005) *J. Leukoc. Biol.*, **77**, 598–625.
171. Winterbourn, C.C., Vissers, M.C.M., Kettle, A.J. (2000) *Current Opinion in Hematology*, **7**, 53–58.
172. Hoy, A., Leininger-Muller, B., Kutter, D., Siest, G., Visvikis, S. (2002) *Clin. Chem. Lab. Med.*, **40**, 2–8.
173. Selye, H. *The stress of life*. (1957) New York: McGraw-Hill Book Company Inc.
174. Коломиец А.Ф. (1991) *Успехи химии*, **60**, 536–544.
175. Федоров Л.А. Диоксины как экологическая опасность: Ретроспективы и перспективы. (1993) М.: Наука, 266 с.
176. Sugiyama, S., Okada, Y., Sukhova, G.K., Virmani, R., Heinecke, J.W., Libby, P. (2001) *Am. J. Pathol.*, **158**, 879–891.
177. Daugherty, A., Dunn, J.L., Rateri, D.L., Heinecke, J.W. (1994) *J. Clin. Invest.*, **94**, 437–444.
178. Hazen, S.L., Heinecke, J.W. (1997) *J. Clin. Invest.*, **99**, 2075–2081.
179. Hazen, S.L., Crowley, J.R., Mueller, D.M., Heinecke, J.W. (1997) *Free Radic. Biol. Med.*, **23**, 909–916.
180. Pennathur, S., Bergt, C., Shao, B., Byun, J., Kassim, S.Y., Singh, P., Green, P.S., McDonald, T.O., Brunzell, J., Chait, A., Oram, J.F., O'Brien, K., Geary, R.L., Heinecke, J.W. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 42977–42983.
181. Shao, B., Pennathur, S., Heinecke, J.W. (2012) *J. Biol. Chem.*, **287**, 6375–6386.
182. Hazell, L.J., Arnold, L., Flowers, D., Waeg, G., Malle, E., Stocker, R. (1996) *J. Clin. Invest.*, **97**, 1535–1544.
183. Hazell, L.J., Baernthaler, G., Stocker, R. (2001) *Free Radic. Biol. Med.*, **31**, 1254–1262.
184. Thukkani, A.K., McHowat, J., Hsu, F.F., Brennan, M.L., Hazen, S.L., Ford, D.A. (2003) *Circulation*, **108**, 3128–3133.
185. Messner, M.C., Albert, C.J., McHowat, J., Ford, D.A. (2008) *Lipids*, **43**, 243–249.

186. Takeshita, J., Byun, J., Nhan, T.Q., Pritchard, D.K., Pennathur, S., Schwartz, S.M., Chait, A., Heinecke, J.W. (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**, 3096–3104.
187. Zhang, R., Brennan, M.L., Fu, X., Aviles, R.J., Pearce, G.L., Penn, M.S., Topol, E.J., Sprecher, D.L., Hazen, S.L. (2001) *JAMA*, **286**, 2136–2142.
188. Roman, R.M., Camargo, P.V., Borges, F.K., Rossini, A.P., Polanczyk, C.A. (2010) *Coron. Artery Dis.*, **21**, 129–136.
189. Wainstein, R.V., Wainstein, M.V., Ribeiro, J.P., Dornelles, L.V., Tozzati, P., Ashton-Prolla, P., Ewald, I.P., Vietta, G., Polanczyk, C.A. (2010) *Clin. Biochem.*, **43**, 57–62.
190. Cojocaru, I.M., Cojocaru, M., Iliescu, I., Botnaru, L., Gurban, C.V., Sfrijan, F., Tănăsescu, R. (2010) *Rom. J. Intern. Med.*, **48**, 101–104.
191. Tang, W.H., Wu, Y., Nicholls, S.J., Hazen, S.L. (2011) *Clin. Chem.*, **57**, 33–39.
192. Karakas, M., Koenig, W., Zierer, A., Herder, C., Rottbauer, W., Baumert, J., Meisinger, C., Thorand, B. (2012) *J. Intern. Med.*, **271**, 43–50.
193. Zheng, L., Nukuna, B., Brennan, M.L., Sun, M., Goormastic, M., Settle, M., Schmitt, D., Fu, X., Thomson, L., Fox, P.L., Ischiropoulos, H., Smith, J.D., Kinter, M., Hazen, S.L. (2004) *J. Clin. Invest.*, **114**, 529–541.
194. Cheng, M.L., Chen, C.M., Gu, P.W., Ho, H.Y., Chiu, D.T. (2008) *Clin. Biochem.*, **41**, 554–560.
195. Rudolph, V., Andrié, R.P., Rudolph, T.K., Friedrichs, K., Klinke, A., Hirsch-Hoffmann, B., Schwoerer, A.P., Lau, D., Fu, X., Klingel, K., Sydow, K., Didié, M., Seniuk, A., von Leitner, E.C., Szoecs, K., Schrickel, J.W., Treede, H., Wenzel, U., Lewalter, T., Nickenig, G., Zimmermann, W.H., Meinertz, T., Böger, R.H., Reichenspurner, H., Freeman, B.A., Eschenhagen, T., Ehmke, H., Hazen, S.L., Willems, S., Baldus, S. (2010) *Nat. Med.*, **16**, 470–474.
196. Higashi, N., Mita, H., Taniguchi, M., Turikisawa, N., Higashi, A., Ozawa, Y., Tohma, S., Arimura, K., Akiyama, K. (2004) *J. Allergy Clin. Immunol.*, **114**, 1353–1358.
197. Wu, S.M., Pizzo, S.V. (2001) *Arch. Biochem. Biophys.*, **391**, 119–126.
198. Stamp, L.K., Khalilova, I., Tarr, J.M., Senthilmohan, R., Turner, R., Haigh, R.C., Winyard, P.G., Kettle, A.J. (2012) *Rheumatology (Oxford)*, **51**, 1796–1803.
199. Schiller, J., Arnhold, J., Sonntag, K., Arnold, K. (1996) *Magn. Reson. Med.*, **35**, 848–853.
200. Steinbeck, M.J., Nesti, L.J., Sharkey, P.F., Parvizi, J. (2007) *J. Orthop. Res.*, **25**, 1128–1135.
201. Mita, H., Higashi, N., Taniguchi, M., Higashi, A., Kawagishi, Y., Akiyama, K. (2004) *Clin. Exp. Allergy*, **34**, 931–938.
202. MacPherson, J.C., Comhair, S.A., Erzurum, S.C., Klein, D.F., Lipscomb, M.F., Kavuru, M.S., Samoszuk, M.K., Hazen, S.L. (2001) *J. Immunol.*, **166**, 5763–5772.
203. O'Donnell, C., Newbold, P., White, P., Thong, B., Stone, H., Stockley, R.A. (2010) *COPD*, **7**, 411–417.
204. Buss, I.H., Senthilmohan, R., Darlow, B.A., Mogridge, N., Kettle, A.J., Winterbourn, C.C. (2003) *Pediatr. Res.*, **53**, 455–462.
205. Harwood, D.T., Darlow, B.A., Cheah, F.C., McNeill, N., Graham, P., Winterbourn, C.C. (2011) *Pediatr. Res.*, **69**, 28–33.
206. Lamb, N.J., Gutteridge, J.M., Baker, C., Evans, T.W., Quinlan, G.J. (1999) *Crit. Care Med.*, **27**, 1738–1744.

207. Lamb, N.J., Quinlan, G.J., Westerman, S.T., Gutteridge, J.M., Evans, T.W. (1999) *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, **160**, 1031–1034.
208. van Der Vliet, A., Nguyen, M.N., Shigenaga, M.K., Eiserich, J.P., Marelich, G.P., Cross, C.E. (2000) *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, **279**, L537–L546.
209. Saude, E.J., Lacy, P., Musat-Marcu, S., Mayes, D.C., Bagu, J., Man, S.F., Sykes, B.D., Moqbel, R. (2004) *Magn. Reson. Med.*, **52**, 807–814.
210. Thomson, E., Brennan, S., Senthilmohan, R., Gangell, C.L., Chapman, A.L., Sly, P.D., Kettle, A.J., Balding, E., Berry, L.J., Carlin, J.B., Carzino, R., de Klerk, N., Douglas, T., Foo, C., Garratt, L.W., Hall, G.L., Harrison, J., Kicic, A., Laing, I.A., Logie, K.M., Massie, J., Mott, L.S., Murray, C., Parsons, F., Pillarisetti, N., Poreddy, S.R., Ranganathan, S.C., Robertson, C.F., Robins-Browne, R., Robinson, P.J., Skoric, B., Stick, S.M., Sutanto, E.N., Williamson, E. (2010) *Free Radic. Biol. Med.*, **49**, 1354–1360.
211. Harwood, D.T., Kettle, A.J., Brennan, S., Winterbourn, C.C. (2009) *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life. Sci.*, **877**, 3393–3399.
212. Himmelfarb, J., McMenamin, M.E., Loseto, G., Heinecke, J.W. (2001) *Free Radic. Biol. Med.*, **31**, 1163–1169.
213. Malle, E., Woenckhaus, C., Waeg, G., Esterbauer, H., Grone, E. F., Grone, H.-J. (1997) *Am. J. Pathol.*, **150**, 603–615.
214. Paquet, P., De Groote, D., Piérard, G.É. (2010) *Dermatology*, **220**, 201–207.
215. Maki, R.A., Tyurin, V.A., Lyon, R.C., Hamilton, R.L., DeKosky, S.T., Kagan, V.E., Reynolds, W.F. (2009) *J. Biol. Chem.*, **284**, 3158–3169.
216. Green, P.S., Mendez, A.J., Jacob, J.S., Crowley, J.R., Growdon, W., Hyman, B.T., Heinecke, J.W. (2004) *J. Neurochem.*, **90**, 724–733.
217. Nagra, R.M., Becher, B., Tourtelotte, W.W., Antel, J.P., Gold, D., Paladino, T., Smith, R.A., Nelson, J.R., Reynolds, W.F. (1997) *J. Neuroimmunol.*, **78**, 97–107.
218. Sánchez-López, F., Tasset, I., Agüera, E., Feijóo, M., Fernández-Bolaños, R., Sánchez, F.M., Ruiz, M.C., Cruz, A.H., Gascón, F., Túnez, I. (2012) *Neurol. Res.*, **34**, 721–724.
219. Choi, D.K., Pennathur, S., Perier, C., Tieu, K., Teismann, P., Wu, D.C., Jackson-Lewis, V., Vila, M., Vonsattel, J.P., Heinecke, J.W., Przedborski, S. (2005) *J. Neurosci.*, **25**, 6594–6600.
220. Henderson, J.P., Byun, J., Takeshita, J., Heinecke, J.W. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 23522–23528.
221. Borato, D.C., Parabocz, G.C., Ribas, S.R., Kalva-Filho, C.A., Borba, L.M., Ito, C.A., Bail, L., Dos Santos, F.A., Velloso, J.C. (2012) *Metabolism*, **61**, 1353–1360.
222. Kothari, N., Keshari, R.S., Bogra, J., Kohli, M., Abbas, H., Malik, A., Dikshit, M., Barthwal, M.K. (2011) *J. Crit. Care.*, **26**, 435.e1–437.e7.
223. Masoodi, I., Kochhar, R., Dutta, U., Vaishnavi, C., Prasad, K.K., Vaiphei, K., Kaur, S., Singh, K. (2009) *J. Gastroenterol. Hepatol.*, **24**, 1768–1774.
224. Masoodi, I., Kochhar, R., Dutta, U., Vaishnavi, C., Prasad, K.K., Vaiphei, K., Hussain, S., Singh, K. (2012) *Dig. Dis. Sci.*, **57**, 1336–1340.
225. do Carmo, R.F., de Almeida, D.B., Aroucha, D.C., Vasconcelos, L.R., de Moraes, A.C., de Mendonça Cavalcanti Mdo, S., de Moraes, C.N., Pereira, L.M., Moura, P. (2012) *Hum. Immunol.*, **73**, 1127–1131.
226. Chalkias, A., Nikotian, G., Koutsovasilis, A., Bramis, J., Manouras, A., Mystrioti, D., Katergiannakis,

- V. (2011) *Am. J. Clin. Oncol.*, **34**, 561–566.
227. *Roncucci, L., Mora, E., Mariani, F., Bursi, S., Pezzi, A., Rossi, G., Pedroni, M., Luppi, D., Santoro, L., Monni, S., Manenti, A., Bertani, A., Merighi, A., Benatti, P., Di Gregorio, C., de Leon, P.M.* (2008) *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, **17**, 2291–2297.
228. *Fletcher, N.M., Jiang, Z., Ali-Fehmi, R., Levin, N.K., Belotte, J., Tainsky, M.A., Diamond, M.P., Abu-Soud, H.M., Saed, G.M.* (2011–2012) *Cancer Biomark.*, **10**, 267–275.
229. *Song, M., Santanam, N.* (2001) *Antioxid. Redox Signal.*, **3**, 1139–1146.
230. *Chen, L.Q., Rohatgi, A., Ayers, C.R., Das, S.R., Khera, A., Berry, J.D., McGuire, D.K., de Lemos, J.A.* (2011) *Atherosclerosis*, **219**, 833–838.
231. *Sokolov, A.V., Ageeva, K.V., Cherkalina, O.S., Pulina, M.O., Zakharova, E.T., Prozorovskii, V.N., Akse-
nov, D.V., Vasilyev, V.B., Panasenko, O.M.* (2010) *Chem. Phys. Lipids*, **163**, 347–355.
232. *Sokolov, A.V., Chekanov, A.V., Kostevich, V.A., Akse-
nov, D.V., Vasilyev, V.B., Panasenko, O.M.* (2011) *Chem. Phys. Lipids*, **164**, 49–53.
233. *Панасенко О.М., Мельниченко А.А., Аксенов Д.В., Вахрушева Т.В., Супрун И.В., Янушевская Е.В., Власик Т.Н., Собенин И.А., Орехов А.Н.* (2004) *Биол. мембраны*, **21**, 498–505.
234. *Pattison, D.I., Davies, M.J.* (2004) *Biochemistry*, **43**, 4799–4809.
235. *Yap, Y.W., Whiteman, M., Cheung, N.S.* (2007) *Cell Signal.*, **19**, 219–228.
236. *Kaur, H., Halliwell, B.* (1990) *Chem. Biol. Interact.*, **73**, 235–247.
237. *Becker, B.F.* (1993) *Free Radic. Biol. Med.*, **14**, 615–631.
238. *Панасенко О.М., Арнхольд Ю., Арнольд К., Сергиенко В.И., Владимиров Ю.А.* (1995) *Биол. мембраны*, **12**, 294–302.
239. *Porta, C., Larghi, P., Rimoldi, M., Totaro, M.G., Allavena, P., Mantovani, A., Sica, A.* (2009) *Immunobiology*, **214**, 761–777.
240. *Панасенко О.М., Горудко И.В., Ковалева А.М., Гусев С.А., Сергиенко В.И., Матишов Д.Г.* (2010) *Вестник Южного научного центра РАН*, **6**, №3, 73–90.
241. *Davies, M.J., Hawkins, C.L., Pattison, D.I., Rees, M.D.* (2008) *Antioxid. Redox Signal.*, **10**, 1199–1234.
242. *Spickett, C.M., Jerlich, A., Panasenko, O.M., Arnhold, J., Pitt, A.R., Stelmazyńska, T., Schaur, R.J.* (2000) *Acta Biochim. Pol.*, **47**, 889–899.
243. *Panasenko, O.M., Vol'nova, T.V., Osipov, A.N., Azizova, O.A., Vladimirov, Yu.A.* (1991) *Biomed. Sci.*, **2**, 581–589.
244. *Владимиров Ю.А., Арчаков А.И.* Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. (1972) М.: Наука, 252 с.
245. *Sokolov, A.V., Ageeva, K.V., Pulina, M.O., Cherkalina, O.S., Samygina, V.R., Vlasova, I.I., Panasenko, O.M., Zakharova, E.T., Vasilyev, V.B.* (2008) *Free Rad. Res.*, **42**, 989–998.
246. *Панасенко О.М., Чеканов А.В., Власова И.И., Соколов А.В., Ageeva K.B., Пулина М.О., Черкалина О.С., Васильев В.Б.* (2008) *Биофизика*, **53**, 573–581.
247. *Galijasevic, S., Abdulhamid, I., Abu-Soud, H.M.* (2008) *Free Radic. Biol. Med.*, **44**, 1570–1577.
248. *Vlasova, I.I., Sokolov, A.V., Arnhold, J.* (2012) *J. Inorg. Biochem.*, **106**, 76–83.
249. *Galijasevic, S., Saed, G.M., Hazen, S.L., Abu-Soud, H.M.* (2006) *Biochemistry*, **45**, 1255–1262.

250. *Kettle, A.J., Anderson, R.F., Hampton, M.B., Winterbourn, C.C. (2007) Biochemistry, 46, 4888–4897.*
251. *Власова И.И., Арнхольд Ю., Осипов А.Н., Панасенко О.М. (2006) Биохимия, 71, 825–837.*