

ДВОЙСТВЕННАЯ ПРИРОДА АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА, АЗОТА И ГАЛОГЕНОВ: ИХ ЭНДОГЕННЫЕ ИСТОЧНИКИ, ВЗАИМОПРЕВРАЩЕНИЯ И СПОСОБЫ НЕЙТРАЛИЗАЦИИ

©2020 г.

Н. Т. МОЛДОГАЗИЕВА¹,
И. М. МОХОСОЕВ², Т. И. МЕЛЬНИКОВА¹,
С. П. ЗАВАДСКИЙ¹, А. Н. КУЗЬМЕНКО¹,
А. А. ТЕРЕНТЬЕВ²

¹ *Первый Московский государственный медицинский университет
имени И.М. Сеченова (Сеченовский университет), Москва;*

² *Российский национальный исследовательский медицинский
университет имени Н.И. Пирогова, Москва*

I. Введение. II. НАДФН-оксидазы семейства NOX. III. Митохондриальные ферменты. IV. Циклооксигеназы, липоксигеназы и ксантиноксидоредуктаза. V. Цитохром P450-содержащие монооксигеназные системы. VI. Синтазы оксида азота (NO-синтазы). VII. Гемсодержащие пероксидазы. VIII. Антиоксидантная система. IX. Заключение.

I. ВВЕДЕНИЕ

Известно, что накопление активных форм кислорода (АФК) приводит к возникновению окислительного стресса, который определяется как состояние дисбаланса между образованием АФК и способностью

Принятые сокращения: АФК – активные формы кислорода; АФА – активные формы азота; АФГ – активные формы галогенов; АОС – антиоксидантная система; СОД – супероксиддисмутаза; NOS (nitric oxide synthase) – синтаза оксида азота, NO-синтаза; XOR (xanthine oxidoreductase) – ксантиноксидоредуктаза; COX (cyclooxygenase) – циклооксигеназа или простагландин G/H синтаза; LOX (lipoxygenase) – липоксигеназа; CYP (cytochrome P450) – цитохром P450; GSH (glutathione) – глутатион; GPx (glutathione peroxidase) – глутатионпероксидаза; GR (glutathione reductase) – глутатионредуктаза; Prx (peroxiredoxin) – пероксиредоксин; Trx (thioredoxin) – тиоредоксин; Srx (sulfiredoxin) – сульфиредоксин; TrxR (thioredoxin reductase) – тиоредоксинредуктаза.

Адреса для корреспонденции: nmoldogazieva@mail.ru; imokhosoev@mail.ru.

Работа выполнена в рамках Проекта повышения конкурентоспособности ведущих российских университетов среди ведущих мировых научно-образовательных центров «5–100».

антиоксидантной системы (АОС) организма, включая её ферментативные и неферментативные компоненты, нейтрализовать их генерацию [1]. Окислительный стресс является следствием существования живых организмов в среде с высоким содержанием кислорода и сопровождается нарушениями строения и функций всех типов биомолекул, включая нуклеиновые кислоты, липиды и белки. Это, в свою очередь, приводит к повреждению биомембран, дисрегуляции убиквитин/протеасомного или аутофаггено-лизосомального путей деградации белков, что становится причиной развития сердечно-сосудистых, нейродегенеративных, онкологических и воспалительных заболеваний, осложнений сахарного диабета, а также процессов старения организма [2–5].

Однако, в настоящее время становится общепризнанным, что в процессе эволюции живые организмы адаптировались к постоянно существующим низким концентрациям эндогенных АФК путем вовлечения их в регуляцию внутриклеточной передачи сигнала, инициируемой факторами роста, такими как эпидермальный фактор роста (ЭФР) или трансформирующие факторы роста (TGF- β), и цитокинами, такими как интерлейкин IL-1, фактор некроза опухолей TNF- α или интерферон- γ , а также активности факторов транскрипции, таких как Nrf2 или NF- κ B [6, 7]. Рядом исследований показано, что регуляторные функции АФК обусловлены обратимой окислительной модификацией аминокислотных остатков в составе белков, главным образом, путем S-сульфенилирования/S-глутатионилирования/S-нитрозилирования/S-персульфидации остатков цистеина и нитрования остатков тирозина [8–10], что обеспечивает поддержание внутриклеточного редокс-гомеостаза и нормальное функционирование клеток. Следовательно, АФК могут иметь не только отрицательное, но и положительное значение в живых системах, выполняя регуляторные функции в клетках.

В связи с этим, в течение последнего десятилетия активное внимание исследователей привлекают не только АФК, но также и активные формы азота (АФА) и галогенов (АФГ), которые также могут обладать регуляторными функциями. Активные формы кислорода, азота и галогенов могут быть представлены разными веществами, ионами и свободными радикалами. К ним относятся: 1) супероксид анион-радикал O_2^- 2) перекись водорода (H_2O_2), 3) различные молекулы, атомы или ионы с неспаренным электроном, называемые свободными радикалами, такие как гидроксильный радикал (HO^\bullet), пероксильный радикал (ROO^\bullet), алкоксильный радикал (RO^\bullet) и радикал оксида азота (NO^\bullet), 4) пероксинитрит ($ONOO^-$), а также 5) хлорноватистая кислота

(НОСl), бромноватистая кислота (НОBr), синглетный кислород ($^1\text{O}_2$) и озон (O_3) [11–16].

Еще одним фактором, обеспечивающим участие АФК, АФА и АФГ в тонких механизмах регуляции физиологических процессов, является существование взаимопревращений между разными формами, образующих сложную сеть различных взаимодействующих друг с другом их эндогенных источников [17]. Например, $\cdot\text{NO}$ и ONOO^- , относящиеся к АФА, могут образовываться из АФК или, наоборот, являться предшественниками АФК, или генерироваться из одного и того же с ними эндогенного источника. Также, дисмутация O_2^- приводит к образованию другой АФК, а именно H_2O_2 , которая может вступать в реакцию Фентона с генерацией гидроксильного радикала, $\text{HO}\cdot$. Супероксидный анион-радикал может также образовываться при разобщении NO-синтазы, а $\text{HO}\cdot$ – при гомолитическом расщеплении протонированной формы пероксинитрита (ONOOH) [18, 19]. Более того, выявлено, что различные активные формы могут оказывать свое действие в клетке посредством влияния на одни и те же молекулярные мишени или участвовать в регуляции одних и тех же путей передачи сигнала [20–22]. В связи с вышесказанным, активные формы кислорода и азота объединяются в одну группу (АФКА).

Анализ путей образования АФКА и АФГ, их взаимопревращений, а также взаимосвязей между их различными эндогенными источниками важен для понимания их роли в физиологических условиях и в патогенезе различных, ассоциированных с окислительным стрессом, заболеваний. Настоящий обзор посвящен анализу литературных данных об основных эндогенных источниках АФКА и АФГ, их взаимопревращений, а также путей нейтрализации для поддержания низких физиологических концентраций, объясняющих двойственную природу АФКА и АФГ и обеспечивающих выполнение ими регуляторных функций в клетках.

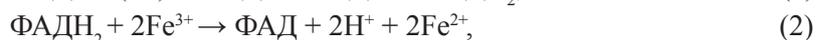
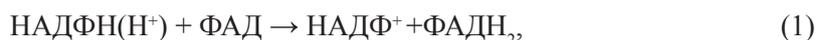
II. НАДФН-ОКСИДАЗЫ СЕМЕЙСТВА NOX

Первичной формой АФК является супероксидный анион-радикал, один из основных эндогенных источников которого представляют реакции, катализируемые НАДФН-оксидазами из семейства ферментов NOX, образующие O_2^- в качестве основного продукта [23]. Прототипной формой НАДФН-оксидаз является NOX2, которая была впервые обнаружена в клетках с фагоцитарной активностью, таких как нейтрофилы и макрофаги, в основе антибактериальной активности которых лежит их способность образовывать супероксидный анион-радикал [24, 25].

В настоящее время известны семь членов семейства ферментов NOX, включая NOX1, NOX2 (gp91phox), NOX3, NOX4, NOX5, а также двойные оксидазы Duox1 и Duox2, сходные по структуре и ферментативной активности. Структурно, все члены этого семейства содержат шесть консервативных трансмембранных доменов, четыре высоко консервативных остатка гистидина, способных связывать гем, а также сайты связывания для НАДФН(H⁺) и ФАД [26]. В то же время, эти ферменты отличаются друг от друга по степени гликозилирования, механизмам активации, распределению в тканях и внутриклеточной локализации. Кроме того, Duox1 и Duox2, обладают уникальной структурой, характеризующейся наличием N-концевого домена, способного в клетках *C. elegans*, но не у человека, ковалентно связывать гем и проявлять пероксидазную активность [27].

НАДФН-оксидазы являются трансмембранными белками, способными переносить электроны через биологические мембраны от НАДФН, локализованного в цитоплазме, на молекулярный кислород (O₂), располагающийся на внешней стороне мембраны [29]. Благодаря наличию участков связывания для НАДФН, ФАД и гема, оксидазы семейства NOX выполняют функции цепи транспорта электронов (ЦТЭ). При этом электроны сначала переносятся с НАДФН(H⁺) на ФАД с образованием НАДФ⁺ и ФАДН₂, соответственно (рис. 1). Далее, один электрон переносится на ион Fe³⁺ в составе гема, восстанавливая его до Fe²⁺, с последующим переносом электрона через клеточную мембрану на молекулярный O₂ для его одноэлектронного восстановления с образованием O₂^{•-} [28].

Цепь реакций транспорта электронов может быть представлена в виде:



Образование активного ферментативного комплекса обеспечивается сборкой белков NOX с различной комбинацией цитоплазматических и мембраносвязанных регуляторных субъединиц: p22phox, Noxa1 (NOX activator 1), Noxo1 (NOX organizer 1), p40phox, p47phox, p67phox, и малых ГТФаз Rac. Сборка субъединиц также обеспечивает их целостность и стабильность [29]. Как предполагается, стабилизация NOX1, NOX2, NOX3 и NOX4 обеспечивается их связыванием с субъединицей p22phox, в то время как для активации NOX2 требуются субъединицы p40phox, p47phox и p67phox. Кроме того, NOX1 связывается с цитоплазматическими субъединицами Noxa1 и Noxo1, а NOX3 связывается с Noxo1 [28].

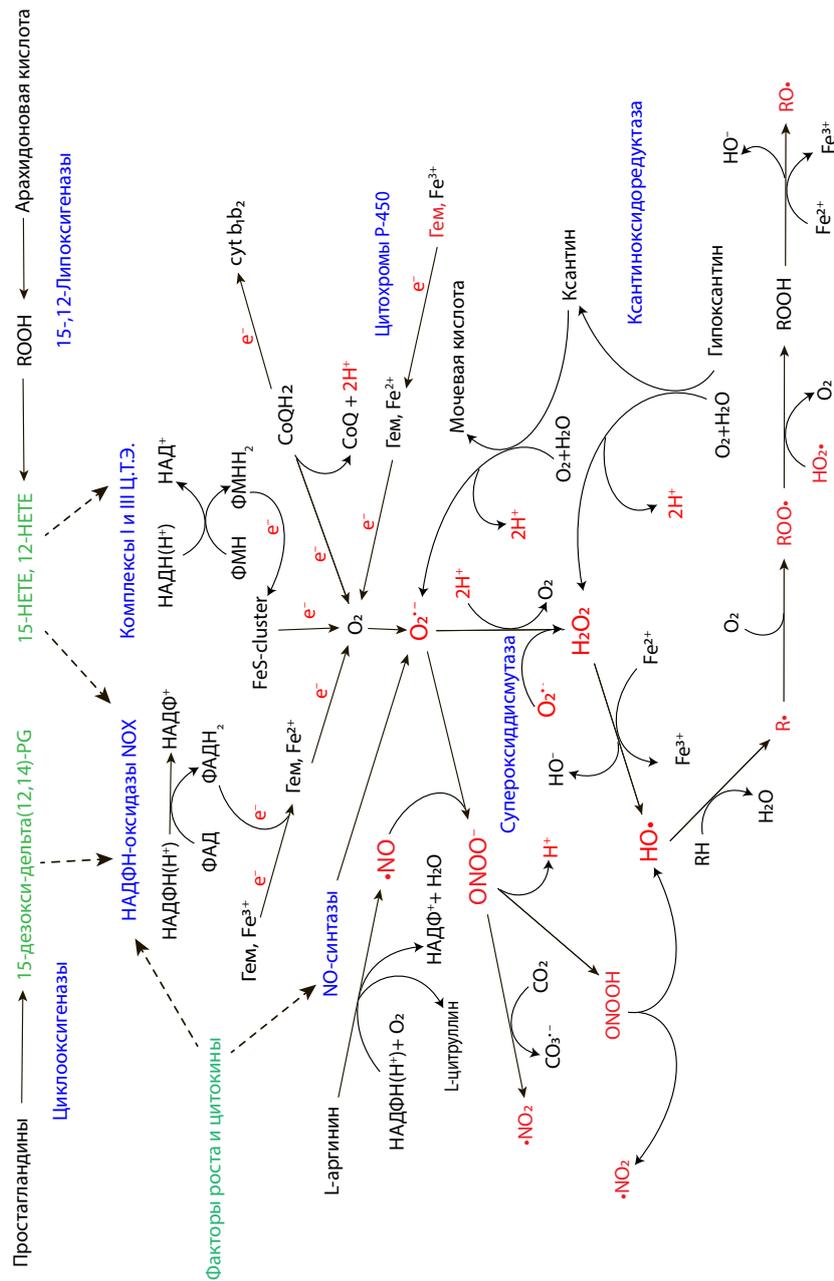


Рис. 1. Схема путей образования и взаимопревращений АФКА.

Сборка и активность некоторых ферментов NOX, таких как NOX1-NOX3, также зависит от активности белка Rac, члена семейства малых ГТФаз Rho [30]. Как было показано, все три гомолога этого белка в клетках млекопитающих (Rac1, Rac2 и Rac3), в отличие от Cdc42 или RhoA, могут активировать ферменты NOX через прямое связывание комплекса Rac-ГТФ с цитоплазматической субъединицей p67phox. В результате этого взаимодействия субъединица p67phox претерпевает конформационные изменения, которые способствуют её взаимодействию с мембраносвязанными субъединицами [31].

Регуляция активности белков Rac, достигаемая путем переключения между Rac-ГДФ (неактивная форма) и Rac-ГТФ (активная форма), контролируется рядом белковых факторов, таких как фактор обмена гуаниновых нуклеотидов (GEFs – guanine exchange factors) и белки, активирующие ГТФазу (GAPs – GTPase-activating proteins), а также ингибиторы диссоциации ГДФ (GDI – GDP dissociation inhibitor) [32]. Участие белков Rac в сборке ферментов NOX обеспечивает пластичность функционирования НАДФН-оксидаз и их перекрестные связи с различными путями передачи сигнала в клетки, инициируемыми факторами роста и цитокинами [33, 34]. Это, в свою очередь, оказывает влияние на клеточный ответ, включая их пролиферацию, апоптоз и иммунный ответ в физиологических и патологических условиях, и может стимулировать образование АФК НАДФН-оксидазами в различных типах клеток [35, 36].

Восстановление образовавшегося супероксидного анион-радикала может происходить либо спонтанно, либо в реакции, катализируемой супероксиддисмутазой (СОД), приводя к образованию перекиси водорода в следующей реакции:



Поэтому, в реакциях, катализируемых НАДФН-оксидазами семейства NOX, может регистрироваться H_2O_2 . Например, НАДФН-оксидаза NOX4 и Duox1/2 являются потенциальными источниками H_2O_2 в мезенхимных клетках в ответ на их стимуляцию фактором роста тромбоцитов (PDGF) [37].

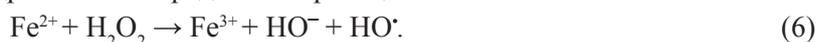
Таким образом, O_2^- может выступать как окислитель с окислительно-восстановительным потенциалом (ОВП) пары $\text{O}_2^-/\text{H}_2\text{O}_2$ равным 0,94В, и как восстановитель с ОВП пары O_2/O_2^- равным –0,33В [38]. При низких значениях рН среды O_2^- может протонироваться с образованием пергидроксильного радикала (HO_2^\cdot), рКа которого равна 4,8 [39].

При определенных условиях H_2O_2 может превращаться в гидроксильный радикал (HO^\cdot), который отличается очень высокой реакционной способностью. Гидроксильный радикал может образо-

ываться в реакции, известной как реакция Хабер-Вайса [40], которая основывается на реакции Фентона [41] и была предложена для объяснения образования $\text{HO}\cdot$ в физиологических условиях и его токсичности для биомолекул. Во всех внеклеточных и внутриклеточных компартментах железо присутствует в виде иона Fe^{3+} , хелатированного различными железосодержащими белками. Поэтому первая стадия реакции включает восстановление иона железа супероксид анион-радикалом:



Вторая стадия заключается в окислении перекиси водорода ионом восстановленного железа с образованием гидроксильного иона и гидроксильного радикала в реакции Фентона:



Таким образом, повреждающее действие H_2O_2 на белки обусловлено образованием высоко реакционноспособного гидроксильного радикала в присутствии ионов переходных металлов. $\text{HO}\cdot$ может также образовываться при взаимодействии H_2O_2 с супероксид анион-радикалом, что свидетельствует о том, что первичные радикалы (O_2^-) могут индуцировать образование вторичных радикалов ($\text{HO}\cdot$, и далее $\text{RO}\cdot$ и $\text{ROO}\cdot$). Этот феномен был впервые описан Н.Н. Семеновым в 50-х годах прошлого столетия как свободнорадикальные цепные реакции [42]. Образование вторичных свободных радикалов является плохо контролируемым процессом и может приводить к необратимым повреждениям биомолекул [43]. Тем не менее, $\text{HO}\cdot$ является самым короткоживущим радикалом со временем полужизни около 10^{-9} сек., неспособным диффундировать в клетке на значительные расстояния.

Перекись водорода стабильна в водном растворе, может свободно диффундировать на значительные расстояния и проходить через биологические мембраны, чем обусловлена её роль в регуляции функций клеток. В целом ряде исследований показана регуляторная роль H_2O_2 в различных типах клеток за счет способности вызывать обратимое окисление аминокислотных остатков в составе белков, включая внутриклеточные эффекторы путей передачи сигнала и факторы транскрипции. Так, показано, что АФК, продуцируемые НАДФН-оксидазами, вызывают обратимое S-сульфенилирование остатков Cys-185 и Cys-277 в составе Src киназы и её активирование [44].

Активность всех изоформ митоген-активируемой протеинкиназы (МАПК), включая ERK1/2, JNK и p38, может регулироваться путем окисления редокс-чувствительных остатков цистеина. В частности, в культуре хондроцитов происходит активирование JNK2 под воздействием фибронектина низких концентраций H_2O_2 ; при 5–20

μM H_2O_2 наблюдается обратимое окисление Cys-222 в составе фосфорилированной формы JNK2 с образованием цистеинсульфеновой кислоты и ингибированием её активности [45]. Антиапоптотический белок Bcl2 может взаимодействовать с ERK1/2 для подавления апоптоза, и эта способность модулируется обратимым окислением остатков цистеина в его молекуле. Было показано, что H_2O_2 вызывает окисление остатков Cys-158 и Cys-229 в составе Bcl2, что сопровождается снижением его активности и индукцией апоптоза эпителиальных клеток легких человека [46].

III. МИТОХОНДРИАЛЬНЫЕ ФЕРМЕНТЫ

Другим важным эндогенным источником супероксид анион-радикала являются митохондрии, а именно, ферментативные комплексы митохондриальной цепи транспорта электронов (ЦТЭ), в которой насчитывается более 11 участков утечки электронов, обеспечивающих генерацию O_2^- [47] в больших количествах, чем НАДФН-оксидазы, но в качестве не основного, а побочного продукта [48]. Цепь транспорта электронов локализована во внутренней мембране митохондрий и состоит из следующих ферментативных комплексов: НАДН-КоQ-оксидоредуктазы (или НАДН-дегидрогеназы, комплекс I), сукцинатдегидрогеназы (комплекс II), коэнзим Q-цитохром с-оксидоредуктазы (комплекс III), цитохром с-оксидазы (комплекс IV) и АТФ-синтазы (комплекс V) [49]. Эти комплексы обеспечивают перенос электронов от НАДН(H^+) или ФАДН₂, образующихся в митохондриальном матриксе или в цитоплазме клетки в реакциях окисления субстратов, на конечный акцептор электронов, которым является молекулярный кислород [50]. Перенос высокоэнергетических электронов по цепи сопровождается высвобождением энергии, которая трансформируется в трансмембранный электрохимический потенциал ($\Delta\mu\text{H}$), используемый в биосинтезе АТФ в ходе окислительного фосфорилирования. В целом, реакция полного четырехэлектронного восстановления молекулярного кислорода, приводящая к образованию двух молекул воды, может быть представлена в следующем виде:



Однако, в процессе функционирования ЦТЭ может происходить неполное одноэлектронное восстановление, которое приводит к образованию супероксид анион-радикала [51]. В связи с тем, что O_2^- является короткоживущим радикалом с временем полужизни от 10^{-6} сек., его регистрация в условиях интактной клетки очень затруднено. Попытки выявить участки образования O_2^- в ЦТЭ интактных митохондрий с

использованием специфических ингибиторов показали, что в его образовании участвуют железосерные (Fe-S) кластеры комплексов I и III [22].

O_2^- может образоваться в митохондриях благодаря взаимодействию восстановленной формы убихинона (кофермента Q), а именно $CoQH_2$, являющегося компонентом комплекса III, с молекулой O_2 с образованием семихинонового радикала ($CoQ\bullet^-$), который далее окисляется с образованием убихинона (CoQ) в ходе следующих реакций [52]:



Кроме того, образование O_2^- происходит в случае задержки переноса электрона от семихинона на цитохромы b_1 и b_2 (рис. 1). При этом, O_2^- может высвобождаться в митохондриальную матрикс или межмембранное пространство, в зависимости от места его образования. Производимый комплексом I O_2^- высвобождается в митохондриальную матрикс, в то время как O_2^- , образованный комплексом III – в межмембранное пространство.

Образование O_2^- в митохондриях повышается при увеличении соотношения НАДН/НАД⁺ в матриксе и зависит от локальной концентрации O_2 [51]. Кроме того, было показано, что образование суперкомплексов в результате взаимодействия ферментативных комплексов (например, комплексов I и III в митохондриях клеток млекопитающих) ограничивает образование АФК [53, 54]. Таким образом, образование суперкомплексов, наряду с обеспечением кинетических преимуществ, а также стабильности и пластичности организации и функционирования ферментативных комплексов, позволяет контролировать образование O_2^- [55, 56].

В митохондриях, эндоплазматическом ретикулуме и пероксисомах может происходить реакция восстановления O_2^- с образованием H_2O_2 . Выход H_2O_2 из митохондрий в цитоплазму влияет на её внутриклеточную концентрацию и обеспечивает её участие в регуляции различных сигнальных путей, обуславливающих пролиферацию, дифференцировку, миграцию и выживание клеток, регенерацию тканей и заживление ран [57, 58]. Однако, проницаемость биологических мембран для H_2O_2 может быть разной и определяется влиянием разных факторов, включая липидный состав мембраны или наличие транспортных белков [59]. В частности, показано, что транспортный белок аквапорин-8 (AQP8) способен переносить через мембрану клеток и эта способность может ингибироваться реакцией персульфидации остатка цистеина Cys-53 в его составе под воздействием H_2S [60, 61].

В физиологических условиях концентрация O_2^- в клетке очень низкая и составляет 10^{-12} – 10^{-10} М, в то время как концентрация H_2O_2 достигает: в клетке около 10^{-9} – 10^{-7} М, в плазме крови – около 1 – 5×10^{-6} М [62, 63]. Работы Sies и соавт. позволили выделить следующие типы клеточного ответа на различные концентрации H_2O_2 [64]: 1) эустресс, проявляющийся при концентрациях H_2O_2 , равных 10^{-9} – 10^{-8} М; 2) адаптивный стресс (при концентрациях H_2O_2 от 10^{-8} до 10^{-7} М), обеспечивающийся переключением активностей факторов транскрипции и их негативных регуляторов (например, Nrf2 и Keap1, или NF- κ B и JNK; 3) окислительный стресс или дистресс (при концентрациях H_2O_2 выше 10^{-7} М), который вызывает повреждения всех типов биомолекул, включая нуклеиновые кислоты, липиды и белки, и нарушение функций клеток [65].

В частности, фактор транскрипции Nrf2 и его эндогенный ингибитор Keap1 играют существенную роль в клеточном ответе на окислительный стресс, вызванный как эндогенными, так и экзогенными АФКА в норме и при патологиях [66]. В нормальных условиях, Nrf2 и Keap1 образует комплекс с вовлечением Cul3 убиквитинлигазы, который распознается для убиквитинилирования и последующей деградации с участием протеасомной системы [67]. В условиях окислительного стресса Nrf2 высвобождается из комплекса с Keap1 и подвергается транслокации в ядро, где связывается с ARE-элементами на ДНК и индуцирует экспрессию генов, кодирующих антиоксидантные ферменты, такие как СОД, каталаза и гемоксигеназа-1 (HO-1). Наличие большого количества остатков цистеина в составе Keap1 обуславливает его важную роль в качестве окислительного/электрофильного сенсора [68]. Показано, что при окислительном/нитрозативном стрессе, вызванном H_2O_2 или оксидом азота, происходит окисление остатков цистеина в составе Keap1 с формированием внутримолекулярной дисульфидной связи Cys266–Cys613, что вызывает конформационные изменения в его структуре, высвобождение и активацию Nrf2 [69].

IV. ЦИКЛООКСИГЕНАЗЫ, ЛИПОКСИГЕНАЗЫ И КСАНТИНОКСИДОРЕДУКТАЗА

Активность ферментов, продуцирующих АФК, включая NOX, может быть стимулирована метаболитами арахидоновой кислоты, такими как простагландины, тромбоксаны и лейкотриены, образуемые липоксигеназами (LOX) и циклооксигеназами (COX) [70–72].

Циклооксигеназы являются мембраносвязанными бифункциональными ферментами, обладающими как оксигеназной, так и пероксидазной активностью. Идентифицированы три изоформы COX: одна конститутивная форма (COX-1) и две индуцибельные формы (COX-2 и COX-3) [70]. Они катализируют реакции циклооксигеназного пути превращений арахидоновой кислоты, в котором она сначала превращается в нестабильный эндопероксид, дающий начало простаноидам, включая простагландины, простациклины и тромбоксан A_2 [73]. За счет оксигеназной активности фермента, арахидоновая кислота может превращаться в простагландин G_2 (PGG₂), и далее, благодаря его пероксидазной активности – в PGG₂. В свою очередь, PGG₂ может превращаться в другие формы простагландинов с помощью специфичных простагландинсинтаз, а именно PGD-синтазы, продуцирующей PGD₂, PGF-синтазы, дающей PGF₂, PGE-синтазы, образующей PGE, и тромбоксансинтазы – тромбоксан A_2 [74]. Простагландины могут легко подвергаться дегидрированию с образованием производных циклопентанона, таких как 15-дезокси- $\Delta(12,14)$ -простагландины (рис. 1), которые, в свою очередь, индуцируют активацию NOX [75]. Например, было показано, что 15-дезокси- $\Delta(12,14)$ -PGJ₂-индуцируемая активация НАДФН-оксидаз вызывает противовоспалительный ответ в мышечных макрофагах [76].

Липоксигеназный путь метаболизма арахидоновой кислоты приводит к образованию гидроперекисей, которые далее восстанавливаются до гидрокси-эйкозатетраеновых кислот (HETEс – hydroxy-eicosatetraenoic acids) или же превращаются в лейкотриены [77]. Классификация LOX с подразделением на 5-, 8-, 12- и 15-LOX основана на положении атома в молекуле арахидоновой кислоты, в котором происходит внедрение атома кислорода [72]. Было показано, что продукты, образуемые 12-LOX и 15-LOX, стимулируют генерацию АФК НАДФН-оксидазами в различных типах клеток, как в физиологических условиях, так и при патологиях [78, 79]. Например, повышение концентрации 15-LOX и его метаболита 15-гидрокси-эйкоза-

тетраеновой кислоты (15-НЕТЕ) в условиях гипоксии облегчает образование АФК в митохондриальной ЦТЭ. 15-НЕТЕ также способна индуцировать NOX4, вследствие чего наблюдается стимуляция миграции эндотелиальных клеток и пролиферации гладкомышечных клеток легочных артерий с участием p38 MAPK-опосредованного пути передачи сигнала [80]. Также, была показана способность 15-НЕТЕ индуцировать синтез фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и усиливать ангиогенез в жировой ткани путем стимуляции PI3K/Akt/mTOR – опосредованного пути передачи сигнала, который также может регулироваться продукцией АФК [81].

Еще одним источником супероксид анион-радикала являются реакции, катализируемые ксантиноксидоредуктазой (XOR), в которых гипоксантин необратимо превращается в ксантин, превращающийся далее в мочевую кислоту в двух заключительных реакциях катаболизма пуринов [82, 83]. XOR синтезируется исходно в виде ксантиндегидрогеназы (XDH – xanthine dehydrogenase), но у млекопитающих она легко превращается в ксантиноксидазу (XO – xanthine oxidase) в результате окисления тиольной группы остатка цистеина или ограниченного протеолиза [84].

XOR содержит четыре редокс-центра: один атом молибдена (Mo) как кофактор, один ФАД в качестве кофермента и два Fe–S кластера ферредоксинового типа в каждой субъединице гомодимерной молекулы. Mo(IV) участвует в окислении пуринового кольца и восстанавливается до Mo(VI), два электрона далее переносятся на 2 Fe–S кластера и затем на ФАД, восстанавливая его до ФАДН₂. Последний используется для восстановления НАД⁺ с образованием НАДН(Н⁺) [85].

Этот фермент может вызывать одно- или двухэлектронное восстановление молекулы кислорода с образованием O₂^{•-} или H₂O₂, соответственно [86, 87], в следующих реакциях:



Общего мнения насчет того, как в этих реакциях образуется перекись водорода, до сих пор нет. Во время реакций, катализируемых XOR, H₂O₂ может образовываться в результате спонтанной дисмутации O₂^{•-}. При этом, константа скорости неферментативной реакции дисмутации (5×10⁵ M⁻¹s⁻¹) значительно ниже таковой для реакции, катализируемой СОД, составляющей 1,6–2,3×10⁹ M⁻¹s⁻¹ при значениях

pH, близких к физиологическим (таблица 1) [63, 88]. Показано, что при значениях pH от 5,5 до 7,4 и концентрации O_2 от 10 до 21%, доля H_2O_2 составляет примерно 75% от общего количества АФК [89]. Снижение концентрации O_2 до 1% приводит к повышению образования H_2O_2 до 90%.

Была показана способность $O_2^{\cdot-}$, образованного в реакциях, катализируемых XOR, вызывать окисление тиольной группы цистеина в составе GSH с образованием GSSG через стадию образования тиольного радикала ($R-S^{\cdot}$). Константа скорости реакции была невысокой и составляла около $10^2-10^3 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, однако внутриклеточная концентрация восстановленного глутатиона, составляющая около 10^{-3} M , может быть достаточной для гашения $O_2^{\cdot-}$ [90].

Таблица 1. Константы скорости реакций второго порядка с участием АФК

Тип АФК	Реакция	Константа скорости реакции, $\text{M}^{-1}\times\text{s}^{-1}$	Ссылка
1	2	3	4
$O_2^{\cdot-}$	Протонирование: $O_2^{\cdot-} + H^+ \rightarrow HO_2^{\cdot}$	$9,7 \times 10^7$	[39]
	Неферментативная реакция дисмутации: $HO_2^{\cdot} + O_2^{\cdot-} + H_2O \rightarrow H_2O_2 + O_2 + OH^-$	$5,0 \times 10^5$	[63, 88]
	Реакция с Fe-S кластерами: $[4Fe-4S]^{2+} + O_2^{\cdot-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + [4Fe-4S]^{3+} \rightarrow [3Fe-4S]^+ + Fe^{2+}$	$1,0 \times 10^9$	[63]
	Дисмутация, катализируемая СОД: $O_2^{\cdot-} + O_2^{\cdot-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$	$1,6-2,3 \times 10^9$	[63, 88]
	Реакция с GSH: $O_2^{\cdot-} + GSH + H^+ \rightarrow GS^{\cdot} + H_2O_2$	$\sim 10^2-10^3$	[90]
	Реакция с $\cdot NO$ с образованием пероксинитрита $O_2^{\cdot-} + \cdot NO \rightarrow ONOO^-$	$1,9 \times 10^9,$ $4,3 \times 10^9$	[63, 131]

Окончание табл. 1 см. на сл. стр.

Окончание табл. 1

1	2	3	4
H ₂ O ₂	Окисление глутатиона глутатионпероксидазой: 2GSH + H ₂ O ₂ → GSSG + 2H ₂ O	~ 1,0×10 ⁸	[63]
	Нейтрализация с участием каталазы: 2H ₂ O ₂ → O ₂ + 2H ₂ O	3,0×10 ⁷	[247]
	Окисление тиольной группы остатка каталитического цистеина в (в тиолатной форме) Prx6 RS· + H ₂ O ₂ → RSOH + H ₂ O	0,82×10 ⁷	[248]
	Окисление тиольной группы остатка каталитического цистеина (в тиолатной форме) Prx2 RS· + H ₂ O ₂ → RSOH + H ₂ O	1,3×10 ⁷	[247]
	МПО (гем-Fe ³⁺) + H ₂ O ₂ → МПО-I (Fe ⁴⁺ =O) + H ₂ O	1,1–5,6×10 ⁷	[249]
	Cl ⁻ + H ₂ O ₂ → OCl ⁻ + H ₂ O, Br ⁻ + H ₂ O ₂ → OBr ⁻ + H ₂ O, SCN ⁻ + H ₂ O ₂ → OSCN ⁻ + H ₂ O	2,5×10 ⁴ 1,1×10 ⁶ 9,6×10 ⁶	[147]
	RH + HO ₂ · → R· + H ₂ O ₂ (R – линолевая, линоленовая, арахидоновая кислоты)	1,18– 3,05×10 ³	[250]
	HO ₂ · + HO ₂ · → O ₂ + H ₂ O ₂	8,6 × 10 ⁵	[251]
Окисление остатков цистеина (R–SH) и метионина (R–S–CH ₃) в белках	1–5×10 ²	[253]	
HO ₂ ⁻	Реакция с GSH: HO ₂ ⁻ + GSH → GS· + H ₂ O ₂	1,0×10 ¹⁰	[63]
	HO ₂ ⁻ + ·NO → ·OH + NO ₂	3,2×10 ⁹	[131]
HO·	HO· + ONOO ⁻ → (OH)ONOO ₂ ⁻	5,8×10	[252]
	Cl ⁻ + HO· → Cl· + HO ⁻	4,3×10 ⁹	[244]
	NO ₂ ⁻ + HO· → NO ₂ · + HO ⁻	~1,0×10 ¹⁰	[252]
	ROOH + Fe ²⁺ → RO· + HO ⁻ + Fe ³⁺ , ROOH + Fe ³⁺ → ROO· + H ⁺ + Fe ²⁺ , ROOH: ДНК, липиды, белки	~10 ⁶ –10 ⁷ 2,0×10 ²	[254]

V. ЦИТОХРОМ P450-СОДЕРЖАЩИЕ МОНООКСИГЕНАЗНЫЕ СИСТЕМЫ

Супероксидный анион-радикал, как первичная форма АФКА, может образовываться при функционировании ферментов, содержащих ионы переходных металлов, служащих в качестве кофакторов, и гема, выступающего в качестве кофермента, т.е. металлоферментов и гемопротеинов, соответственно [91].

К АФК-продуцирующим гемопротеинам относится цитохром-P450 (СУР)-содержащая монооксигеназная система, которая играет ключевую роль в метаболизме и I фазе инактивации как эндогенных (стероидные гормоны, желчные кислоты и витамины группы D), так и экзогенных (ксенобиотики и лекарства) органических соединений путем окисления/гидроксилирования ароматического кольца или алкильного углерода, сопровождающегося генерацией O_2^- [92, 93]. В настоящее время известно 57 функционально активных генов суперсемейства СУР у человека, кодирующих цитохромы P450, которые объединяются в 18 семейств и 44 подсемейств. У человека они ответственны за биотрансформацию большинства ксенобиотиков, включая 70–80% лекарственных средств, используемых в настоящее время в клинической практике [94].

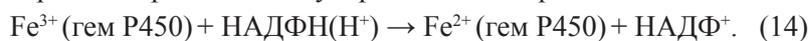
Бактериальные цитохромы P450 являются растворимыми ферментами, в то время как эукариотические СУР представляют собой мембраносвязанные ферменты, локализованные либо во внутренней мембране митохондрий, либо в мембранах эндоплазматического ретикулума [95]. Цитохромы P450 различного происхождения имеют разные редокс-партнеры, участвующие в переносе электронов с НАДФН на СУР. Например, цепь транспорта электронов микросомальной P450-содержащей системы осуществляет перенос электронов с НАДФН на СУР с участием цитохром P450-редуктазы и цитохрома b5, в то время как митохондриальная монооксигеназная система использует в качестве редокс-партнеров аденодоксин и аденодоксинредуктазу, а бактериальная – ферредоксин, содержащий FeS-кластеры, и ферредоксинредуктазу [96].

Реакция гидроксилирования (монооксигеназная реакция) субстрата, катализируемая СУР ферментами в общем виде может быть записана как:



В ходе каталитического цикла, связывание субстрата инициирует перенос одного электрона от НАДФН(H^+) и редокс-партнера на ион железа Fe^{3+} в составе гема цитохрома P450, восстанавливая его с

образованием Fe^{2+} , что облегчает связывание O_2 и продукцию гидроксильного производного гема [95, 97]. Перенос второго электрона сопряжен со связыванием протонов с образованием временного дигидроперокси- производного. Далее происходит расщепление связи $O-O$ в последнем, что приводит к образованию оксо- производного гема и гидроксильной группы в субстрате. Образование АФК (рис. 1) происходит при одноэлектронном восстановлении молекулярного кислорода с образованием супероксид анион-радикала:



Цитохромы Р450 относятся к ферментам, подвергающимся самоинактивации в ходе ферментативной реакции [98, 99]. Самоинактивация, вероятнее всего, обусловлена окислительной модификацией SH-групп остатков цистеина или окислительным нитрованием остатков тирозина в молекуле фермента активными формами кислорода или азота, соответственно, образуемыми в ходе монооксигеназной реакции. Например, было показано, что нитрование нескольких остатков тирозина пероксинитритом в составе Р450САМ (СУР101А1) и Р450ВМ3 (СУР102А1) приводит к потере их монооксигеназной и редуказной активности по аутокаталитическому механизму [100, 101]. Самоинактивация Р450ВМ3 предотвращалась дитиотрейтолом и GSH, что свидетельствовало о вовлечении окислительной модификации тиольных групп остатков Cys в процесс инактивации [102].

VI. СИНТАЗЫ ОКСИДА АЗОТА (NO-СИНТАЗЫ)

Оксид азота ($^{\cdot}\text{NO}$) представляет собой первичную форму АФА и образуется в клетках в реакции превращения L-аргинина в L-цитруллин через образование промежуточного продукта N-ω-гидрокси-L-аргинина (рис. 1). Эта реакция протекает в аэробных условиях в присутствии коферментов НАДФН(H^+), ФАД, ФМН и тетрагидробиоптерина (BH_4) [103]. NO-синтазы являются гем-содержащими белками, представленными тремя основными изоформами: 1) нейрональная NOS (nNOS, NOSI), конститутивно экспрессируемая в клетках центральной и периферической нервной системы и в некоторых других типах клеток, 2) индуцибельная NOS (iNOS, NOSII), экспрессируемая во многих типах клеток в ответ на действие цитокинов, таких TGF- β , IL-4, IL-10, INF- γ и липополисахариды, 3) эндотелиальная NOS (eNOS, NOSIII), конститутивно экспрессирующаяся в клетках эндотелия сосудов [18].

Нейрональная NO-синтаза участвует в синаптической передаче сигнала и обеспечивает пластичность центральной нервной системы, нейрогенез и основные функции ЦНС, такие как способность к обучению и память. При этом, функции nNOS зависят от внутриклеточной локализации фермента [104]. Цитокин-индуцируемая NO-синтаза участвует в генерации NO различными типами клеток, включая гепатоциты, макрофаги и нейтрофилы. Тем самым, она участвует в патогенезе воспалительных процессов и в развитии септического шока в ответ на действие патогенов, а также может быть задействована в патогенезе атеросклероза [105–107]. Эндотелиальная NO-синтаза представляет собой основную изоформу NOS, участвующую в регуляции сосудистого тонуса, хотя все три типа NOS могут быть задействованы в поддержании редокс-гомеостаза сердечно-сосудистой системы [108–110]. Кроме вышперечисленных трех основных изоформ, была также идентифицирована конститутивно активная митохондриальная NO-синтаза (mtNOS), представляющая собой изоформу pNOS, уровень экспрессии которой при различных патологических состояниях может изменяться [111].

По своей структуре все изоформы NOS содержат C-концевой домен с редуктазной активностью и N-концевой гем-связывающий домен с оксигеназной активностью и могут существовать как в мономерной, так и в функционально активной гомодимерной форме, образование которой облегчается связыванием гема [112]. В мономерной форме все изоформы NOS осуществляют перенос электронов от НАДФН на ФАД и ФМН, в то время как в гомодимерной форме NOS приобретают способность связывать BH_4 , O_2 и L-аргинин в N-концевом оксигеназном домене, в котором происходит окисление субстрата с образованием L-цитруллина и NO [113]. В ходе реакции ион Fe^{3+} в составе гема принимает электрон от редуктазного домена и восстанавливается до Fe^{2+} . BH_4 выступает как донор одного электрона и окисляется до катион-радикала тригидробиоптерина, протонированного по его N⁵-атому ($\text{BH}_3(\text{H}^+)$), который может снова восстанавливаться до BH_4 под воздействием антиоксидантных агентов, таких как аскорбиновая кислота [113, 114].

В своем редуктазном домене все изоформы NOS могут связывать кальмодулин (CaM), который является сенсором ионов Ca^{2+} и вызывает конформационные изменения в молекуле NOS, облегчая перенос электронов от редуктазного к оксигеназному домену [115]. Сродство CaM к конститутивным формам NOS (pNOS и eNOS) возрастает при повышении внутриклеточной концентрации ионов Ca^{2+} , в то время как iNOS обладает высоким сродством к кальмодулину даже при

очень малых концентрациях Ca^{2+} . При этом, комплекс CaM-iNOS обладает меньшей внутренней подвижностью при физиологических концентрациях CaM по сравнению с комплексом CaM-eNOS [116]. Все NOS также содержат сайты связывания ионов Zn^{2+} , которые, по-видимому, необходимы для связывания BH_4 и L-аргинина и не обладают каталитической активностью. При этом, ион Zn^{2+} координируется в тетрагональной конформации парой мотивов CxxxxC [117].

Активность NO-синтаз регулируется белок-белковыми взаимодействиями и обратимыми посттрансляционными химическими модификациями, такими как фосфорилирование и S-глутатионилирование [118, 119]. Например, в клетках скелетных мышц активация eNOS и nNOS может осуществляться путем фосфорилирования в ответ на стимуляцию инсулином [118]. Кроме того, показано, что взаимодействие eNOS с белком теплового шока HSP90, динамином 2, β -актином, тубулином и $\text{p}115$ приводит к активации NOS. А взаимодействие с CAT-1 (cationic amino acid transporter-1), растворимой гуанилатциклазой sGC и ферментами, участвующими в метаболизме L-аргинина, а именно, аргинин-сукцинат синтазой и аргинин-сукцинат лиазой, облегчают прямую доставку L-аргинина на eNOS [119].

В условиях, при которых изоформы NOS не были сопряжены с коферментом BH_4 , вследствие его окисления, или в условиях отсутствия L-аргинина и накопления метиларгинина наблюдалось образование не только $\cdot\text{NO}$, но и O_2^- [120–122]. Образование O_2^- в этом процессе, называемом разобщением NO-синтазы, является естественным свойством всех NOS, а BH_4 играет контролируемую роль в предотвращении высвобождения O_2^- из оксигеназного домена [122]. Было показано, что в отсутствие BH_4 оксигеназные домены iNOS и eNOS остаются в мономерной форме и образуют исключительно O_2^- , в то время как в отсутствие L-аргинина они существуют в виде смеси мономеров и гомодимеров и образуют O_2^- и $\text{BH}_3(\text{H}^+)$ катион-радикал [121].

Разобщение NO-синтаз тоже регулируется их фосфорилированием и S-глутатионилированием в редуктазном домене [123, 124]. Было показано, что PKB/Akt фосфорилирует рекомбинантную, лишённую кофермента BH_4 , eNOS по остатку Ser1177, что увеличивает продукцию O_2^- более чем на 50% и усиливает чувствительность eNOS к ионам Ca^{2+} до такой степени, что образование АФК становится независимым от их концентрации [123]. В эндотелиальных клетках сосудов VEGF индуцирует фосфорилирование eNOS и образование O_2^- . Также показано, что в микроциркуляторном русле легких, индуцированное липополисахаридами разобщение eNOS с

образованием O_2^- обусловлено его NOX2-опосредованным S-глутатионилированием [125].

Разобщение NO-синтаз было выявлено при различных заболеваниях, включая эндотелиальную дисфункцию и сердечно-сосудистые заболевания, такие как гипертензия, атеросклероз, ишемия и хроническая сердечная недостаточность [126, 127]. Например, окислительный стресс эндотелиальных клеток, вызванный гипоксией/реоксигенацией, приводит к увеличению уровня GSH и последующему S-глутатионилированию eNOS со сдвигом его активности в сторону продукции O_2^- [128].

В кровеносном русле оба продукта NO-синтаз ($\cdot NO$ и O_2^-) могут быстро взаимодействовать с образованием другой высокоактивной формы азота – пероксинитрит-аниона ($ONOO^-$) [129, 130]:

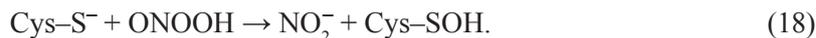


Константа скорости реакции (Таблица 2) очень высока и составляет около $1,9\text{--}4,3 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ [63, 131]. Значимость этой зависимой от диффузии реакции определяется как образованием пероксинитрита, так и инактивацией обоих субстратов. Эта реакция может контролироваться СОД, снижающей уровень O_2^- , хотя она может происходить даже в присутствии СОД, что объясняется её чрезвычайно высокой скоростью, превышающей скорость ферментативной дисмутации O_2^- (таблица 1).

$ONOO^-$ является высоко реакционноспособной АФА с рКа, равным 6,8 и одно- или двухэлектронным окислителем и нуклеофилом. Активность пероксинитрита в биологических системах достаточно сильно зависит от значения рН среды. В слабокислой среде он может подвергаться протонированию с образованием пероксоазотистой кислоты:



Если при физиологических значениях рН, равных 7,4, около 80% пероксинитрита находится в анионной форме, то при рН 6,2 до 80% находится в форме пероксоазотистой кислоты, которая сильно отличается от $ONOO^-$ по реакционной способности, стабильности и способности проникать через мембрану [132]. Пероксоазотистая кислота может осуществлять двухэлектронное окисление тиольных групп остатка Cys (в тиолатной форме) в составе белков с образованием остатка цистеинсульфеновой кислоты и нитрит-иона:



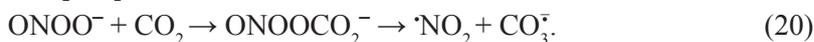
Было показано, что фотолиз $ONOOH$ при 355 нм и значениях рН от 4,0 до 5,5 происходит почти всегда по связи N–O, приводя к образо-

ванию $\cdot\text{NO}$ и $\text{HO}_2\cdot$ [133]. Гомолитическое расщепление ONOOH по связи $\text{O}-\text{O}$ в слабощелочной среде приводит к образованию радикала диоксида азота ($\cdot\text{NO}_2$) и гидроксильного радикала ($\text{HO}\cdot$) [134]:



Образовавшийся в последней реакции диоксид азота способен окислять биомолекулы, включая белки. В частности, было показано, что при физиологических значениях pH среды $\cdot\text{NO}_2$ может вызывать окисление тиольных групп остатков цистеина в белках и глутатионе с образованием тиильных радикалов ($\text{R}-\text{S}\cdot$ и $\text{GS}\cdot$, соответственно) с константой скорости реакции около 5×10^7 и $2 \times 10^7 \text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$, соответственно [135].

ONOO^- способен проходить через биологические мембраны путем диффузии или с использованием ионных каналов. Например, показана способность ONOO^- проходить внутрь эритроцитов, вызывая окисление оксигемоглобина до метгемоглобина [136]. Прохождение через мембраны ингибируется связыванием с двуокисью углерода (CO_2). В результате этого взаимодействия образуется нитрозопероксокарбонат ONOOCO_2^- , который далее подвергается гомолитическому расщеплению до триоксокарбонат анион-радикала ($\text{CO}_3\cdot^-$) и $\cdot\text{NO}_2$, обладающих очень высокой окислительной способностью [137]:



В связи с тем, что концентрация пероксинитрита в условиях *in vivo* составляет около 10^{-3} М и константа скорости взаимодействия ONOO^- с CO_2 достаточна, составляя $5,8 \times 10^4 \text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$, лишь ограниченное число молекул-мишеней может взаимодействовать с ONOO^- при физиологических концентрациях CO_2 [130]. К белкам, подвергающимся окислительной модификации тиольных групп под воздействием ONOO^- , относятся Cys- и SeCys-зависимые ферменты, такие как глутатионпероксидазы, пероксиредоксины, гем-содержащие белки (миелопероксидаза и гемоглобин) и содержащие Zn-тиолатный центр факторы транскрипции.

Под воздействием ONOO^- и $\cdot\text{NO}_2$ в белках происходит нитрование остатков Tug и Trp, вызывающее значительные конформационные и функциональные изменения, влияющие на внутриклеточную передачу сигнала и лежащие в основе возникновения многих патологических состояний [138]. При этом, образование $\cdot\text{NO}_2$ радикала обуславливает более высокий выход реакций нитрования по сравнению с пероксинитритом.

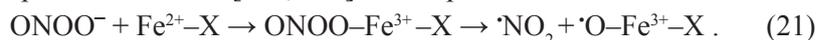
Образование $\cdot\text{NO}_2$ из пероксинитрита в присутствии CO_2 значительно увеличивает константы скорости реакции второго порядка

окисления гемопротеинов. Например, константа скорости реакции окисления миоглобина пероксинитритом в присутствии 1,2 мМ диоксида углерода составляет $4,1 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, что на порядок выше, чем в отсутствие CO_2 (таблица 2) [139]. Пероксинитрит взаимодействует с нитрозил-Нб (Нб-Fe(II)-NO) и нитрозил-Мб (Мб-Fe(II)-NO) в две стадии с более высокими константами реакции второго порядка в присутствии CO_2 [140]. Показано также, что ONOO^- может связы-

Таблица 2. Константы скорости реакций второго порядка с участием АФА и АФГ

Активные формы азота и галогенов	Реакция	Константа скорости реакции, $\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$	Ссылка
·NO	$\text{O}_2^- + \cdot\text{NO} \rightarrow \text{ONOO}^-$	$1,9 \times 10^9$ $4,3 \times 10^9$	[252, 131]
	$\text{O}_2 + 2\cdot\text{NO} \rightarrow 2\text{NO}_2$	$2,0 \times 10^6$	[63]
	$\cdot\text{NO} + \text{CO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- + \text{CO}_2$	$3,5 \times 10^9$	[244]
	$\cdot\text{NO} + \text{ROO}\cdot \rightarrow \text{NOOOR}$	$\sim 1,0 \times 10^9$	[63]
	МПО (гем-Fe ³⁺) + ·NO → → МПО-I (Fe ^{4+=O}) + NO ₂ ⁻	$6,8 \times 10^6$	[258]
	Мб (Fe ³⁺ -O ₂) + ·NO → Мб (Fe ^{4+=O}) + NO ₂ ⁻ Нб (Fe ³⁺ -O ₂) + ·NO → Нб (Fe ^{4+=O}) + NO ₂ ⁻	$5,4 \times 10^4$ $8,8 \times 10^4$	[255]
	Тур-34 (Mn-COD) + ·NO → → Нитро-Тур-34(Mn-COD)	$\sim 1,0 \times 10^5$	[259]
	Реакция с тиольным радикалом тиольной группы цистеина в составе белков и GSH с образованием нитрозотиолов: RS· + ·NO → RSNO	$2-3 \times 10^9$	[256]
ONOO ⁻ / ONOOH	$\text{ONOO}^- + \text{CO}_2 \rightarrow \text{ONOOCO}_2^- \rightarrow \cdot\text{NO}_2 + \text{CO}_3^-$	$5,8 \times 10^4$	[130]
	Реакция с тиольной группой остатка каталитического цистеина в Prx: R-S ⁻ + ONOOH → R-SOH + NO ₂ ⁻	$\sim 10^5-10^7$	[257]
·NO ₂	$\text{Cys-SH} + \cdot\text{NO}_2 \rightarrow \text{Cys-S}\cdot + \text{NO}_2^-$	$5,0 \times 10^7$	[135]
	$\text{GSH} + \cdot\text{NO}_2 \rightarrow \text{GS}\cdot + \text{NO}_2^-$	$2,0 \times 10^7$	[135]
HOCl	$\text{HOCl} + \text{NO}_2^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{NO}_2\text{Cl} + \text{H}_2\text{O}$	$7,4 \times 10^3$	[245]
	Met + HOCl → Met-SOCH ₃ Cys + HOCl → Cys-SOH His + HOCl → His-NH-Cl Trp + HOCl → Trp-NH-Cl	$3,8 \times 10^7$ $3,0 \times 10^7$ $1,0 \times 10^5$ $1,1 \times 10^4$	[246]

ваться с ионами переходных металлов, такими как ионы железа и меди, в металлопротеинах с образованием аддуктов Льюиса. Гомолиз этих аддуктов приводит к образованию $\cdot\text{NO}_2$ и комплекса оксирадикал–металл [132, 141] в ходе реакции:



VII. ГЕМСОДЕРЖАЩИЕ ПЕРОКСИДАЗЫ

Пероксидазы являются ферментами, катализирующими окисление субстратов с помощью перекиси водорода. К гемсодержащим пероксидазам относятся, в первую очередь, миелопероксидаза (МПО) и эозинофильная пероксидаза (ЭПО), лактопероксидаза (ЛПО), тиреоидная пероксидаза и пероксидазин [142–146]. При физиологических значениях pH под действием гемсодержащих ферментов происходит каталитическое окисление галогенидов (Cl^- , Br^- , I^-) и псевдогалогенидов, таких как тиоцианаты (SCN^-), с образованием гипогалогенидов (OHal^-), которые далее могут подвергаться протонированию в ходе реакций [142]:



В последней реакции образуются гипогалоидные кислоты, а именно: хлорноватистая (HOCl), бромноватистая (HOBr), йодноватистая (HOI) и гипотиоциановая (HOSCN) кислоты. Соли гипогалоидных кислот, гипогалогениды, представляют собой высоко реакционноспособные окислители, окислительная способность которых уменьшается в ряду: $\text{OCl}^- > \text{OBr}^- > \text{OI}^-$. Значения окислительно-восстановительных потенциалов для пар HOCl/Cl^- , HOBr/Br^- и HOI/I^- , соответственно, составляют 1,08, 0,93 и 0,57В [147]. Все гемсодержащие пероксидазы способны окислять I^- , однако при нейтральных значениях pH только МПО способна окислять Cl^- с достаточными значениями константы скорости реакции второго порядка (Таблица 1). ЛПО окисляет преимущественно SCN^- , в то время как ЭПО – Br^- и тиоцианаты, окисляя хлориды лишь при кислых значениях pH [147].

Следовательно, наиболее реакционноспособной АФГ является HOCl , образуемая в результате окисления хлоридов МПО, содержащейся в азурофильных гранулах нейтрофилов, способных к фагоцитозу, осуществляемому с образованием фагосом [148]. Именно способность МПО генерировать активные формы галогенов, а именно система $\text{МПО/H}_2\text{O}_2/\text{галогениды}$, в основном, ответственна за

антибактериальные свойства лейкоцитов [149]. Содержание МПО в нейтрофилах очень высокое и составляет вплоть до 5% общего белка. Этот фермент вырабатывается также моноцитами и исчезает по мере их созревания в макрофаги.

Несмотря на то, что организм обладает несколькими системами для борьбы с инфекцией, МПО представляют собой передний фронт борьбы с микроорганизмами, активизирующимся при высокой концентрации патогенов [149]. Значение рКа хлорноватистой кислоты равно 7,5, т.е. при значениях рН, близких к физиологическим, НОСI и ОСГ находятся в равновесии. рКа НОВг и НОСCN равны 8,7 и 4,85–5,3, соответственно, т.е. при значениях рН, близких к физиологическим, НОВг находится, преимущественно в недиссоциированной форме, а НОСCN – в диссоциированной [150]. Механизм генерации АФГ (рис. 2) гемсодержащими пероксидазами включает двухэлектронное окисление иона железа Fe^{3+} в составе гема пероксидазы под воздействием H_2O_2 с образованием оксоферрилпорфирин- π -катионной группы $Fe^{4+}=O$ (реакция 24), которая далее взаимодействует с галогенидами (реакции 22 и 23) с образованием гипогалоидных кислот. Оксо-феррильная группа МПО-I претерпевает двухэтапное одноэлектронное восстановление сначала до МПО-II с Fe^{4+} в составе гема (реакция 25), а далее до нативного фермента МПО (реакция 26) [151]. При следующем одноэлектронном восстановлении под воздействием супероксид-анион-радикала, продуцируемого НАДФН-оксидазами, локализованными в мембранах фагосом, образуется МПО-III, содержащий Fe^{2+} (реакция 27) [152]. Благодаря высокому редокс-потенциалу пар субстрат/продукт в этих реакциях, МПО способна окислять большое разнообразие биомолекул, содержащих тиольную группу, бензольное и индольное кольца, а также нитриты и ксенобиотики [153].



Роль НАДФН-оксидаз и супероксид-анион-радикала в образовании АФГ в фагосомах и их антибактериальной активности подтверждается тем обстоятельством, что больные хроническим лимфогранулематозом с генетическим недостатком НАДФН-оксидаз и мыши с отсутствием отдельных субъединиц НАДФН-оксидаз характеризуются снижением антибактериальной защиты и чувствительностью к инфекциям [154–156].

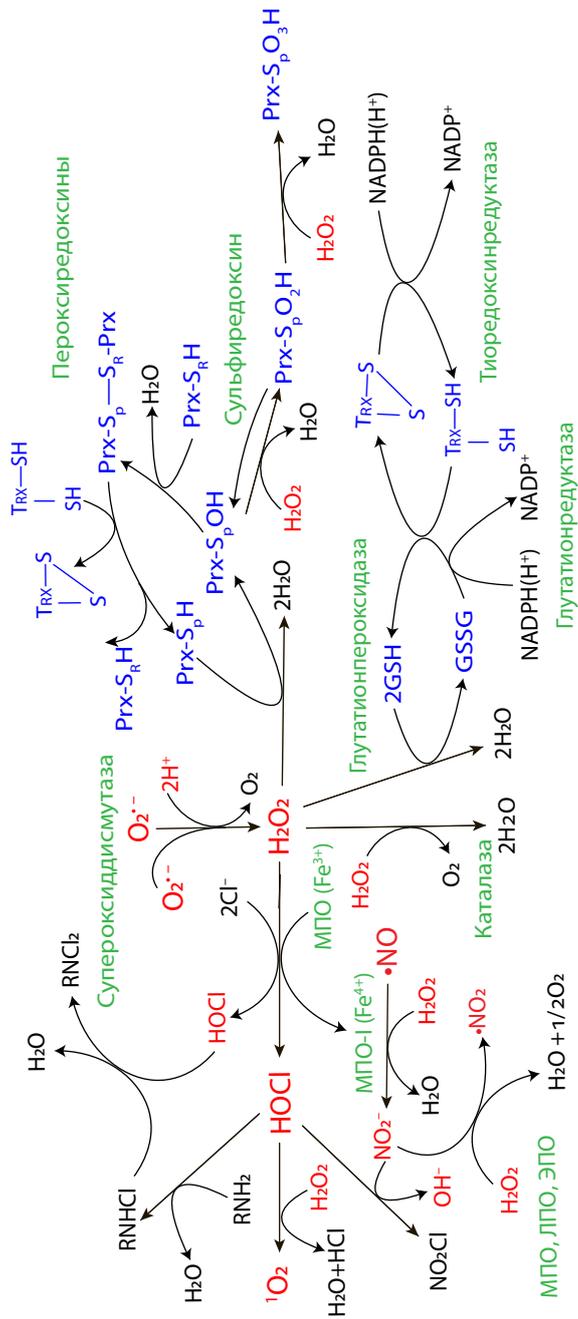


Рис. 2. Схема путей превращений АФГ и нейтрализации АФК

Было показано, что $\cdot\text{NO}$ может претерпевать одноэлектронное окисление до нитрозилирующего агента, нитрит-иона (NO_2^-) в качестве промежуточного продукта под воздействием МПО-I и МПО-II. Далее, МПО, ЛПО и ЭПО способны также окислять NO_2^- в присутствии перекиси водорода с образованием диоксида азота ($\cdot\text{NO}_2$) [157, 158]. Таким образом, АФА могут образоваться с помощью гемсодержащих пероксидаз, что также способствует проявлению их антибактериальной активности.

Гипогалоидные кислоты являются первичными АФГ, которые могут приводить к образованию вторичных АФГ, таких как монохлорамины (RNHCl), дихлорамины (RNCl_2), хлорамиды (R-NCl-C(O)-R_1), монобромамины (RNHBr), дибромамины (RNBr_2) и бромамиды (R-NBr-C(O)-R_1) [159]. Такие продукты могут образоваться при взаимодействии АФГ с нуклеофилами, в особенности, с веществами, содержащими атомы азота и серы, т.е. тиольную, тиоэфирную, амидную и amino-группы. Кроме прямого галогенирования, АФГ могут подвергаться окислению функциональные группы в остатках аминокислот в составе белков и пептидов, такие как тиольная группа цистеина, тиоэфирная группа метионина, имидазольное кольцо гистидина и триптофана и др. [160–163].

Наилучшими мишенями для действия HOCl и HOBr являются остатки цистеина в белках и восстановленном глутатионе (GSH), которые сначала образуют сульфенилхлорид (RSCl), а затем обратимо окисляются до цистеинсульфеновой (RSOH) и цистеинсульфиновой (RSO_2H) кислот, а далее необратимо – до цистеинсульфоновой кислоты (RSO_3H). Обратимость реакций окисления остатков цистеина лежит в основе участия АФГ в регуляции редокс-гомеостаза и активности белков и клеточного ответа на окислительный стресс, включая регуляцию внутриклеточных путей передачи сигнала [151]. В частности, показано, что окисление остатков цистеина и метионина, гидроксилирование тирозина, триптофана и пролина, хлорирование и дихлорирование тирозина в составе фосфатазы PTEN (phosphatase and tensin homologue) приводит к снижению её активности, что может приводить к стимуляции PI3K/AKT-опосредованного пути передачи сигнала [164].

Пероксидазин является гемсодержащей пероксидазой, известной своей способностью катализировать образование бромноватистой кислоты во внеклеточном матриксе [146]. Её мишенью является коллаген IV типа, в котором она вызывает образование сульфенилимина и поперечных сшивок между остатками метионина и гидроксилизина, образованного окислением под воздействием HOBr . Это, в свою

очередь, способствует стабилизации межклеточного матрикса, что необходимо для развития тканей и указывает на наличие анаболических функций, а не только катаболической, повреждающей активности, у АФГ [165].

В ряде работ было показано, что активация гемсодержащих пероксидаз, галогенирование и окисление аминокислотных остатков в белках, азотистых оснований в нуклеиновых кислотах и липидов в липопротеинах ассоциировано с развитием заболеваний, таких как атеросклероз и сердечно-сосудистые заболевания, воспаление и др. [166–171]. В частности, было показано, что НОС1-индуцированное хлорирование и дихлорирование остатков тирозина и окисление остатков триптофана, метионина и гистидина в составе фибронектина гладкомышечных клеток коронарных сосудов приводит к повышению их пролиферативной активности и снижению адгезии к внеклеточному матриксу, что может лежать в основе патогенеза атеросклероза [172]. Кроме того, окисление тиольных групп в составе α -антитрипсина, транстиретина и гаптоглобина, а также карбонилирование и образование дитирозина в составе белка системы комплемента С3 и аполипопротеина А-I при высоких концентрациях НОС1, продуцируемого МПО, приводит к образованию поперечных сшивок в белках, что сопровождается развитием воспаления [173].

VIII. АНТИОКСИДАНТНАЯ СИСТЕМА

В ходе длительной эволюции живые организмы приобрели адаптивные системы обнаружения, захвата и нейтрализации АФКА и АФГ для защиты клеток от действия их высоких токсичных концентраций и поддержания редокс-гомеостаза [174–176]. В живых организмах возникли сложные приспособительные механизмы, направленные на поддержание концентраций АФКА и АФГ на стабильно низком уровне и их использование для регуляции активности внутриклеточных эффекторов передачи сигнала, инициируемых факторами роста, факторов транскрипции, ферментов и др. [177–179].

Достигается это путем активации в ответ на окислительный стресс эндогенной антиоксидантной системы, состоящей из ферментативных и неферментативных компонентов, которые способны ингибировать реакции окисления и предотвращать образование и дальнейшее распространение образующихся высокореактивных электрофильных продуктов [180, 181]. Среди ферментов, которые могут взаимодействовать с АФКА, следует выделить супероксиддисмутазу, каталазу, глутатионпероксидазу, глутатионредук-

тазу, пероксиредоксины и др. К неферментативным антиоксидантам относятся витамины, такие как аскорбиновая кислота, альфа-токоферол и ретинол. Кроме того, следует особо выделить вещества, содержащие тиольную группу, такие как глутатион и липоевая кислота, а также дипептид карнозин, мелатонин, билирубин, мочевую кислоту, кофермент Q, ионы переходных металлов, такие как Fe^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} [182–184]. В физиологических условиях эти системы обезвреживания АФКА действуют скоординировано и способствуют поддержанию редокс-гомеостаза и нормальному функционированию клеток.

ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ КОМПОНЕНТЫ АОС

В клетках млекопитающих и их внутриклеточных органеллах, включая митохондрии, экспрессируется, как было сказано выше, целый ряд ферментов, вовлеченных в инактивацию АФК, АФА и АФГ. Супероксид анион-радикал, как первичная форма АФК, подвергается реакции дисмутации спонтанно или воздействием супероксиддисмутазы с образованием перекиси водорода (реакция 4). При этом, высокая скорость превращения O_2^- в H_2O_2 под действием СОД обеспечивает уменьшение повреждающего действия АФК на клетки [185].

В клетках млекопитающих различают три типа СОД: цитоплазматическая Cu/Zn-содержащая СОД (СОД1), митохондриальная Mn-содержащая СОД (СОД2) и внеклеточная Cu/Zn-содержащая СОД (СОД3) [186]. Следует отметить, что СОД1 также может быть выявлена в митохондриях различных типов клеток и может высвобождаться из митохондрий вместе с цитохромом с в ответ на АФК-индуцированное окисление тиольной группы остатка цистеина в транслоказе адениновых нуклеотидов (ANT – adenine nucleotide translocase) и набухание митохондрий [187]. В связи с тем, что СОД снижает концентрацию O_2^- , который взаимодействует с $\cdot\text{NO}$ с образованием ONOO^- (реакция 16), то под действием СОД наблюдается также снижение концентрации пероксинитрита [188].

Метаболизм H_2O_2 контролируется каталазой [189–193] и различными пероксидазами, в том числе, глутатионпероксидазами (GPx) и пероксиредоксином (Prx) [194–196]. Каталаза представляет собой гомотетрамерный фермент, обнаруживаемый не только в пероксисомах, но и в других внутриклеточных компартментах, включая митохондрии [190]. Каждая из четырех идентичных тетрагонально расположенных субъединиц содержит гем в глубине своего активного центра [192, 193]. При высоких концентрациях H_2O_2 , каталаза ката-

лизирует взаимодействие двух молекул перекиси водорода (рис. 2) с образованием 2 молекул воды и O_2 согласно уравнению:



Однако при низких концентрациях H_2O_2 и при наличии подходящих доноров протона, таких как этанол или фенол, каталаза может функционировать как пероксидаза [189]:



Глутатионпероксидазы представляют собой большое семейство Cys- и SeCys-зависимых пероксидаз, играющих ключевую роль в регуляции метаболических процессов и передаче сигнала путем поддержания низкого уровня H_2O_2 в биологических системах [194]. У млекопитающих семейство GPx состоит из восьми членов, обозначаемых GPx1–GPx8, среди которых GPx1 обнаруживается в цитоплазме большинства клеток и участвует в инсулин-индуцируемой передаче сигнала, в то время как GPx2 синтезируется в эпителиальных клетках желудочно-кишечного тракта и обладает противовоспалительной активностью [195, 196]. GPx3 представляет собой мембранный гликопротеин, в то время как GPx4 является митохондриальным ферментом, для которого показано участие в регуляции апоптоза и взаимодействие с окисленным холестерином и липопротеинами. Для GPx5 была показана ассоциация с мужской фертильностью, функции GPx6 и GPx7 пока не выяснены, а для GPx8 было предположено участие в фолдинге белков [197, 198]. Также стоит отметить, что GPx1–4 и GPx6 являются Se-содержащими ферментами, в то время как все другие глутатионпероксидазы не содержат селен [195].

GPx используют две молекулы трипептида GSH, глутамил-цистеинил-глицина, который обнаруживается как в прокариотических, так и в эукариотических клетках, в качестве донора электронов в реакции окисления перекисью водорода с образованием двух молекул воды и окисленного глутатиона путем образования дисульфидной связи между атомами серы (GSSG) [199]:



Внутриклеточное соотношение GSH/GSSG поддерживается также другим НАДФН-зависимым ферментом АОС – глутатионредуктазой (GR), использующим НАДФН(H^+) в качестве кофермента и донора электронов в реакции восстановления GSSG с образованием GSH [200]:



GPx и GR, наряду с глутатионтрансферазой и глутаредоксинами Grx1 и Grx2, относятся к белкам системы глутатиона и семейства тиоредоксина (Trx) [201]. Белки семейства Trx содержат Trx-подобный мотив пространственной структуры и обладают способностью окислять остатки цистеина в белках-мишенях, включая факторы транскрипции, в ответ на окислительный стресс [202]. Система GSH участвует в обратимом S-глутатионилировании белков, при котором Pi изоформа глутатионтрансферазы катализирует образование межмолекулярной дисульфидной связи между остатками цистеина в составе глутатиона и белка. В то время как Grx катализируют разрыв дисульфидной связи с восстановлением тиольных групп. Таким образом, существование тиольной группы остатка цистеина в GSH обеспечивает редокс-переключение в паре GSH/GSSG с участием целого ряда ферментов, необходимых для утилизации, деградации и регенерации GSH [200].

Пероксиредоксины представляют собой семейство Cys-содержащих пероксидаз, включающих 6 членов, обозначаемых PrxI–PrxVI и содержащих высокоаффинный H_2O_2 -связывающий участок [203, 204]. Остатки цистеина в составе Prx являются чрезвычайно чувствительными к окислению с константой скорости реакции на несколько порядков (таблица 1) превышающих аналогичные значения окисления остатков цистеина перекисью водорода в других эффекторных белках [205].

В составе Prx содержатся два остатка Cys, вовлеченных в каталитический цикл (рис. 2). Один из них является высококонсервативным, называемым пероксидативным (peroxidatic, C_p), и подвергается окислению перекисью водорода до цистеинсульфеновой кислоты (R–SOH). А другой – полуконсервативный и называемый регулирующим (resolving, C_r), образует внутримолекулярную дисульфидную связь с C_p . Окисление этих остатков цистеина происходит в три стадии: 1) окисление перекисью водорода с образованием R–SOH, 2) образование дисульфидной связи, 3) восстановление дисульфидной связи другим белком. Вторая стадия является лимитирующей скоростью всего процесса и может приводить к накоплению Prx в форме R–SOH [206, 207]. Это обстоятельство может определять разную скорость реакции окисления разных типов Prx и являться основанием роли Prx в качестве сенсоров H_2O_2 .

Пероксидативный каталитический цикл может прерываться тиоредоксином, который обладает редуктазной активностью и может восстанавливать R–SOH до цистеина [208]. Trx бывает двух типов: цитоплазматическим Trx1, способным к транслокации в ядро, и

митохондриальным Tx2 [209]. Окисленная форма Tx содержит дисульфидную связь, которая восстанавливается с помощью тиоредоксинредуктазы (TxR) в присутствии НАДФН [210]. Восстановленная форма Tx содержит редокс-активный остаток цистеина, способный взаимодействовать с дисульфидной связью в составе белков в реакции тиол-дисульфидного обмена.

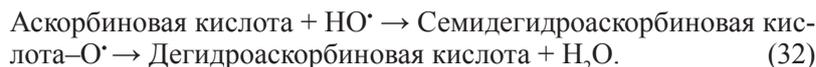
Было показано, что митохондрии богаты PrxIII, который может подвергаться гипероксидации с образованием цистеинсульфиновой кислоты ($R-SO_2H$), что лежит в основе инактивации фермента [211, 212]. Реактивация PrxIII происходит путем восстановления остатка цистеина с участием сульфиредоксина (Srx) [213], который, как было показано в работах Rhee и соавт. [214, 215], проникает в митохондрии благодаря образованию дисульфидной связи с белком теплового шока HSP90. Авторами было высказано предположение, что высвобождение H_2O_2 из митохондрий в цитоплазму обусловлено инактивацией PrxIII.

НЕФЕРМЕНТАТИВНЫЕ КОМПОНЕНТЫ АОС

Антиоксиданты неферментативной природы могут быть классифицированы по физико-химическим свойствам на гидрофильные и гидрофобные. Гидрофильные компоненты, такие как L-аскорбиновая кислота (витамин С), альфа-липоевая кислота (ALA) и GSH обнаруживаются в цитоплазме, ядре и матриксе митохондрий и активны в водной среде [180, 216]. Гидрофобные молекулы, такие как альфа-токоферол (витамин Е) и ретинол (витамин А), функционируют в клеточной мембране и мембранах внутриклеточных органелл, где они ингибируют реакции перекисного окисления липидов. Большинство из природных низкомолекулярных антиоксидантов, такие как витамины, биофлавоноиды и каротиноиды, не синтезируются в клетках млекопитающих и должны поступать в организм вместе с пищей [178].

Многие из гидрофильных антиоксидантов служат в качестве коферментов и играют ключевую роль в функционировании ферментов и мультиферментных комплексов. Например, *L-аскорбиновая кислота* участвует в реакциях окисления/восстановления в качестве кофермента в составе монооксигеназ (гидроксилаз), таких как лизил-гидроксилаза, пролил-3-гидроксилаза и пролил-4-гидроксилаза [217]. При физиологических значениях pH, аскорбиновая кислота существует в виде моноанионной формы и может легко отдавать один электрон на семидегидроаскорбиновую кислоту, которая является относительно неактивным свободным радикалом и может далее

окисляться путем отдачи второго электрона с образованием дегидроаскорбиновой кислоты (DHA – dehydroascorbic acid):



DHA может транспортироваться в клетки, такие как гладкомышечные клетки и стимулированные инсулином адипоциты, с помощью транспортеров глюкозы, в основном, GLUT10, и может быть снова восстановлена с помощью GSH в аскорбиновую кислоту, которая затем накапливается в митохондриях и защищает митохондриальную мембрану и митохондриальный геном от окислительного стресса [218].

Антиоксидантные свойства аскорбиновой кислоты обусловлены ингибированием НАДФН-оксидаз и iNOS и являются дозозависимыми [219, 220]. С использованием различных клеточных культур и на моделях животных показано, что способность аскорбиновой кислоты переносить электроны лежит в основе её антиоксидантной функции и способности прерывать цепную радикальную реакцию, предотвращая, тем самым, окислительный стресс и гибель клеток [221, 222]. Например, показана способность витамина С защищать от окислительного стресса, вызванного ишемией-реперфузией, снижать повреждение и дисфункцию сосудов, способствуя их восстановлению после реваскуляризации сердечной мышцы, особенно в сочетании с другими антиоксидантами [219]. Инкубация макрофагов с аскорбиновой кислотой стабилизирует их фагоцитарную активность и ингибирует адгезию клеток и хемотаксис [209, 223]. Это качество обеспечивает антисептическую активность витамина С и его способность ослаблять развитие пневмонии, вызванной бактериальной инфекцией легких.

Другой низкомолекулярный антиоксидант, альфа-липоевая кислота (ALA), является коферментом пируватдегидрогеназного комплекса и может проявлять свои антиоксидантные свойства через прямое тушение АФК или непрямым способом через хелатирование ионов переходных металлов [224]. ALA была использована в ряде животных моделей для лечения заболеваний, ассоциированных с нарушением редокс-гомеостаза, например, в предотвращении и лечении осложнений сахарного диабета [225]. Кроме того, показано, что пероральное применение ALA приводит к улучшению качества жизни больных с нефропатией [226].

Из четырех типов токоферола (α -, β -, γ - и ϵ -), обладающих сходными антиоксидантными свойствами, только α -токоферол (витамин E) отвечает требованиям, предъявляемым к витаминам, и обладает

высоким сродством к его специфическому транспортеру, токоферол-переносящему белку (ТТР – tocopherol transfer protein). Витамин Е способствует сохранению качества мембран как тушителю образования пероксильного радикала липидов (LOO^\bullet) и защищает полиненасыщенные жирные кислоты от окисления [227], действуя в соответствии с реакцией:



Кроме антиоксидантных свойств, для α -токоферола была показана антипролиферативная активность, обусловленная его способностью ингибировать активности протеинкиназы С (РКС) [228].

Еще одним низкомолекулярным антиоксидантом является билирубин. Было показано, что в условиях *in vitro* небольшие концентрации билирубина вызывают ингибирование НАДФН-оксидаз, что приводит к снижению образования супероксид анион-радикала в бесклеточной системе, состоящей из мембранных и цитозольных фракций нейтрофилов свиней [229]. Билирубин образуется из биливердина при деградации гема в результате его окисления гемоксигеназой (НО – heme oxygenase). Этот фермент имеет две изоформы: НО-1, индуцируемую АФКА и цАМФ, и конститутивную НО-2 [230]. Окисление гема этим ферментом происходит в присутствии O_2 и НАДФН и приводит к превращению гемоглобина в вердоглобин с высвобождением оксида углерода (СО) и окислением Fe^{2+} до Fe^{3+} согласно реакции:



Эта реакция является единственно известным способом образования эндогенного СО, который выделяется из организма через легкие, т.е. активность гемоксигеназы можно определять путем измерения содержания СО в выдыхаемом воздухе. Биливердин высвобождается от белковой части вердоглобина и затем восстанавливается с образованием билирубина в реакции, катализируемой биливердинредуктазой:



Так как деградация гема сопровождается высвобождением иона Fe^{3+} , важной функцией гемоксигеназы считается ее участие в рециклизации железа. Кроме того, для НО-1 показана противовоспалительная активность, обусловленная высвобождением СО, а также способность стимулировать пролиферацию опухолевых клеток и их выживание [231].

Карнозин обладает способностью защищать разные типы клеток и тканей от повреждающего действия окислительного стресса. В частности, на модели крыс с поражением ткани мозга было показано, что карнозин способствует снижению уровня АФК, малонового диальдегида и 3NT, а также цитокинов, таких как IL-1 β , IL-6 и TNF- α , наряду с повышением активности СОД и GSH-Px [232]. Карнозин может также реагировать с HOCl с образованием монохлораминов в рН-зависимой реакции межмолекулярного переноса иона хлора Cl⁻ от имидазольного кольца на концевую аминогруппу карнозина [163, 233]. Реакция протекает быстро с константой скорости $1,6 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{сек}^{-1}$ и способствует образованию менее реакционноспособных вторичных АФК, что лежит в основе защитного действия карнозина от повреждающего действия первичных АФК. Показано, что в карнозине может осуществляться аналогичный внутримолекулярный перенос иона Br⁻, что свидетельствует о его роли в нейтрализации бромноватистой кислоты [234].

Таким образом, нарушение функционирования какого-либо компонента АОС приводит к возникновению окислительного/нитрозного стресса и последующим повреждениям биомолекул, включая белки, нуклеиновые кислоты и мембранные липиды [235–237]. Это, в свою очередь, приводит к нарушениям функций клеток, вплоть до их гибели путем апоптоза, некроза и аутофагии, лежащих в основе возникновения и прогрессирования различных хронических заболеваний, таких как нейродегенеративные, сердечно-сосудистые, воспалительные, опухолевые и осложнения сахарного диабета [238–240].

Необходимо отметить, что биологический эффект от действия антиоксидантов зависит от их количества, скорости их образования и деградации, физико-химических свойств, локализации внутри ткани и клетки [241]. Однако в связи с тем, что терапевтические эффекты антиоксидантов были продемонстрированы на клеточных и животных моделях при различных заболеваниях, их употребление в составе пищи очень поощряется [242]. Однако есть очень мало клинических доказательств долгосрочной пользы от перорального применения большинства антиоксидантов, включая витамины А, Е и С, которые были использованы в широкомасштабных клинических испытаниях, проведенных в соответствии с критериями доказательной медицины. Кроме того, чрезмерное употребление антиоксидантов, особенно в случае веществ с липофильными свойствами, может нести в себе негативные последствия для здоровья [243].

IX. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, один и тот же эндогенный источник может генерировать разные активные формы, как кислорода, так и азота или галогенов. При этом, разные формы свободных радикалов могут взаимодействовать с друг с другими или образовываться из других форм. Кроме того, рядом исследований было показано, что разные типы АФКА и АФГ могут вызывать химические модификации в одних и тех же белках и регулировать активность одних и тех же сигнальных молекул или факторов транскрипции. Регуляторные функции АФКА и АФГ проявляются в их низких концентрациях, в противовес высоким концентрациям, в которых они оказывают повреждающее действие на разные типы биомолекул и клетки, в целом. Все это является свидетельством двойственной природы и существования перекрестных связей между разными типами АФКА и АФГ, а также их эндогенными источниками.

Этот феномен имеет не только теоретическое значение для лучшего понимания механизмов действия АФКА и АФГ на молекулярные мишени и их последствий для функционирования клетки, но и играет важную роль в возникновении и развитии хронических заболеваний, обусловленных окислительным стрессом. В связи с тем, что окислительный стресс лежит в основе процессов старения и ряда возрастных заболеваний, таких как опухолевые, сердечно-сосудистые, нейродегенеративные и воспалительные заболевания, а также осложнения сахарного диабета, то знания, полученные в этой области, также способствуют созданию новых лекарственных средств для их лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sies, H., Berndt, C., Jones, D.P. (2017) Oxidative Stress, *Annual Review of Biochemistry*, **86**, 715–748.
2. Di Meo, S., Reed, T.T., Venditti, P., Victor, V.M. (2016) Role of ROS and RNS sources in physiological and pathological conditions, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2016**, 1245049.
3. Ma, M.W., Wang, J., Zhang, Q., Wang, R., Dhandapani, K.M., Vadlamudi, R.K., Brann, D.W. (2017) NADPH oxidase in brain injury and neurodegenerative disorders, *Molecular Neurodegeneration*, **12**, 7.
4. Forman, H.J. (2016) Redox signaling: an evolution from free radicals to aging, *Free Radicals in Biology and Medicine*, **97**, 398–407.
5. Moldogazieva, N.T., Lutsenko, S.V., Terentiev, A.A. (2018) Reactive oxygen and nitrogen species-induced pro-

- tein modifications: implication in carcinogenesis and anticancer therapy. *Cancer Research*, **78**, 6040–6047.
6. Forman, H.J., Ursini, F., Maiorino, M. (2014) An overview of mechanisms of redox signaling. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, **73**, 2–9.
7. Adams, L., Franco, M.C., Estevez, A.G. (2015) Reactive nitrogen species in cellular signaling. *Experimental Biology and Medicine*, **240**, 711–717.
8. Ray, P.D., Huang, B.W., Tsuji, Y. (2012) Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation and signaling. *Cell Signaling*, **24**, 981–990.
9. Forman, H.J., Maiorino, M., Ursini, F. (2010) Signaling functions of reactive oxygen species. *Biochemistry*, **49**, 835–842.
10. Adams, L., Franco, M.C., Estevez, A.G. (2015) Reactive nitrogen species in cellular signaling. *Experimental Biology and Medicine*, **240**, 711–717.
11. Fridovich, I. (1997) Superoxide anion radical, superoxide dismutases, and related matters. *Journal of Biological Chemistry*, **272**, 18515–18517.
12. Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. (1999) *Free Radicals in Biology and Medicine*, Oxford University Press, Oxford.
13. Parke, D.V. (1996) Chemical toxicity and reactive oxygen species. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, **9**, 331–340.
14. Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T., Mazur, M., Telser, J. (2007) Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human diseases. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, **39**, 44–84.
15. Pacher, P., Beckman, J.S., Liaudet, L. (2007) Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiological Reviews*, **87**, 315–424.
16. Wagner, B.A., Reszka, K.J., McCormick, M.L., Britigan, B.E., Evig, C.B., Burns, C.P. (2004) Role of thiocyanate, bromide and hypobromous acid in hydrogen peroxide-induced apoptosis. *Free Radical Research*, **38**, 167–175.
17. Daiber, A., Di Lisa, F., Oelze, M., Kroller-Schon, S., Steven, S., Schulz, E., Munzel T. (2017) Crosstalk of mitochondria with NADPH oxidase via reactive oxygen and nitrogen species signaling and its role for vascular function. *British Journal of Pharmacology*, **174**, 1670–1689.
18. Förstermann, U., Sessa, W.C. (2012) Nitric oxide synthases: regulation and function. *European Heart Journal*, **33**, 829–837.
19. Luo, S., Lei, H., Qin, H., Xia, Y. (2014) Molecular mechanisms of endothelial NO synthase uncoupling. *Current Pharmaceutical Design*, **20**, 3548–3553.
20. Morgan, M.J., Liu, Z.-G. (2011) Crosstalk of reactive oxygen species and NF- κ B signaling. *Cell Research*, **21**, 103–115.
21. Finkel, T. (2012) Signal transduction by mitochondrial oxidants. *Journal of Biological Chemistry*, **287**, 4434–4440.
22. Brand, M.D. (2016) Mitochondrial generation of superoxide and hydrogen peroxide as the source of mitochondrial redox signaling. *Free Radicals in Biology and Medicine*, **100**, 14–31.
23. Bedard, K., Krause, K.H. (2007) The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. *Physiological Reviews*, **87**, 245–313.
24. Fialkow, L., Wang, Y., Downey, G.P. (2007) Reactive oxygen and nitrogen species as signaling molecules regulating neutrophil function. *Free Radicals in Biology and Medicine*, **52**, 100–110.

- cals in Biology and Medicine*, **42**, 153–164.
25. Garaude, J., Acin-Perez, R., Martinez-Cano, S., Enamorado, M., Ugo-
lini, M., Nistal-Villan, E., Hervas-
Stubbs, S., Pelegrin, P., Sander, L.E.,
Enriques, J.A., Sancho, D. (2016) Mitochondrial respiratory-chain
adaptations in macrophages contrib-
ute to antibacterial host defense,
Nature Immunology, **17**, 1037–1045.
 26. Vignais, P.V. (2002) The superoxide-
generating NADPH oxidase: struc-
tural aspects and activation mecha-
nism, *Cellular and Molecular Life
Sciences*, **59**, 1428–1459.
 27. Meitzler, J.L., Ortiz de Montellano,
P.R. (2009) *Caenorabditis ele-
gans* and human dual oxidase 1
(DUOX1) «peroxidase» domains,
Journal of Biological Chemistry,
284, 18634–18643.
 28. Brandes, R.P., Weissmann, N., Schro-
der, K. (2014) Nox family NADPH
oxidases: molecular mechanisms of
activation, *Free Radicals in Biology
and Medicine*, **76**, 208–226.
 29. Purushothaman, D., Sarin, A. (2009)
Cytokine-dependent regulation of
NADPH oxidase activity and the
consequences for activated T cell
homeostasis, *Journal of Experimen-
tal Medicine*, **206**, 1515–1523.
 30. Miyano, K., Suminoto, H. (2012)
Assessment of the role for Rho fam-
ily GTPases in NADPH oxidase
activation, *Methods of Molecular
Biology*, **827**, 195–212.
 31. Pick, E. (2014) Role of the Rho
GTPase Rac in the activation of pha-
gocyte NADPH oxidase: outsourcing
a key task, *Small GTPases*, **5**, e27952.
 32. Bustelo, X.R., Sauzeau, V., Bere-
njeno, I. (2007) GTP-binding pro-
teins of the Rho/Rac family: regu-
lation, effectors and functions in
vivo, *Bioessays*, **29**, 356–370.
 33. Dhaunsi, G.S., Alsaeid, M., Akhtar,
S. (2016) Phytanic acid activates
NADPH oxidase through transacti-
vation of epidermal growth factor
receptor in vascular smooth muscle
cells, *Lipids in Health and Disease*,
15, 105.
 34. Yang, D., Elner, S.G., Bian, Z.M.,
Till, G.O., Petty, H.R., Elner, V.M.
(2007) Pro-inflammatory cytokines
increase reactive oxygen species
through mitochondria and NADPH
oxidase in cultured RPE cells,
Experimental Eye Research, **85**,
462–472.
 35. Damaino, S., Fusco, R., Morano, A.,
De Mizio, M., Paternó, R., De Rosa,
A., Spinelli, R., Amente, S., Frunzio,
R., Mondola, P., Miot, F., Laccetti,
P., Santillo, M., Avvedimento, E.V.
(2012) Reactive oxygen species re-
gulate the levels of dual oxidase
(Duox1–2) in human neuroblastoma
cells, *PLoS One*, **7**, e34405.
 36. Panday, A., Sahoo, M.K., Osorio, D.,
Batra, S. (2015) NADPH oxidases:
an overview from structure to innate
immunity-associated pathologies,
Cellular and Molecular Immunology,
12, 5023.
 37. Tyurin-Kuzmin, P.A., Zhdanovskaya,
N.D., Sukhova, A.A., Sagaradze,
G.D., Albert, E.A., Ageeva, L.V.,
Sharonov, G.V., Vorotnikov, A.V.,
Tkachuk, V.A. (2016) Nox4 and
Duox1/2 mediate redox activation
of mesenchymal cell migration by
PDGF, *PLoS One*, **11**, e0154157.
 38. Colin, F. Chemical basis of reactive
oxygen species reactivity and in-
volvement in neurodegenerative
diseases. (2019) *International Jour-
nal of Molecular Sciences*, **20**, 2407.
 39. Wardman, P. (1989) Reduction pot-
entials of one-electron couples invol-
ving free radicals in aqueous solution,
*Journal of Physical and Chemical
Reference Data*, **18**, 1637–1755.
 40. Haber, F., Weiss, J. (1934) The cata-
lytic decomposition of hydrogen
peroxide, *Proceedings of the Royal
Society*, **147**, 332–351.

41. Fenton, H.J.H. (1894) Oxidation of tartaric acid in presence of iron, *Journal of the Chemical Society Transactions*, **65**, 899–910.
42. Semenov, N.N. (1959) *Some problems in chemical kinetics and reactivity*, Princeton University Press: Princeton, USA.
43. Weidinger, A., Kozlov, A.V. (2015) Biological activities of reactive oxygen and nitrogen species: oxidative stress versus signal transduction, *Biomolecules*, **5**, 472–484.
44. Heppner D.E., Dustin C.M., Liao C., Hristova M., Veith C., Little A.C., Ahlers B.A., White S.L., Deng B., Lam Y.W., Li J., van der Vliet A. (2018) Direct cysteine sulfenylation drives activation of the Src kinase, *Nature Communications*, **9**, 4522.
45. Nelson K.J., Bolduc J.A., Wu H., Collins J.A., Burke E.A., Reisz J.A., Klomsiri C., Wood S.T., Yammani R.R., Poole L.B., Furdul C.M., Loeser R.F. (2018) H₂O₂ oxidation of cysteine residues in c-Jun N-terminal kinase 2 (JNK2) contributes to redox regulation in human articular chondrocytes, *Journal of Biological Chemistry*, **293**, 16376–16389.
46. Luanpitpong S, Chanvorachote P, Stehlik C, Tse, W., Callery, P.S., Wang, L., Rojanasakul, Y. (2013) Regulation of apoptosis by Bcl-2 cysteine oxidation in human lung epithelial cells, *Molecular Biology of the Cell*, **24**, 858–869.
47. Wong H.-S., Dighe P.A., Mezera V., Monternier P.-A., Brand M.D. (2017) Production of superoxide and hydrogen peroxide from specific mitochondrial sites under different bioenergetic conditions, *Journal of Biological Chemistry*, **292**, 16804–16809.
48. Гривенникова В.Г., Виноградов А.Д. (2013) Генерация активных форм кислорода митохондриями, *Успехи биологической химии*, **53**, 245–296.
49. Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter P. (2002) *Molecular biology of the cell*, in *The Mitochondrion* (4th edition), Garland Science, New-York.
50. Van Boxel, G.I., Doherty, W.L., Parmar M. (2012) Cellular oxygen utilization in health and sepsis, *Continuing Education in Anaesthesia Critical Care and Pain*, **12**, 207–212.
51. Murphy, M.P. (2009) How mitochondria produce reactive oxygen species, *Biochemical Journal*, **417**, 1–13.
52. James A.M., Smith, R.A., Murphy, M.P. (2004) Antioxidant and prooxidant properties of mitochondrial coenzyme Q, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **423**, 47–56.
53. Maranzana, E., Barbero, G., Falasca, A.I., Lenaz, G., Genova, M.L. (2013) Mitochondrial respiratory supercomplex association limits production of reactive oxygen species from complex I, *Antioxidants & Redox Signaling*, **19**, 1469–1480.
54. Lenaz, G., Tioli, G., Falasca, A.I., Genova, M.L. (2016) Complex I function in mitochondrial supercomplexes, *Biochimica et Biophysica Acta*, **1857**, 991–1000.
55. Lenaz, G., Genova, M.L. (2009) Structural and functional organization of the mitochondrial respiratory chain: a dynamic super-assembly, *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, **41**, 1750–1772.
56. Acin-Perez, R., Enriquez, J.A. (2014) The function of the respiratory supercomplexes: the plasticity model, *Biochimica et Biophysica Acta*, **1837**, 444–450.
57. Stone, J.R., Yang, S. (2006) Hydrogen peroxide: a signaling messenger, *Antioxidants & Redox Signaling*, **8**, 243–270.
58. Van der Vliet, A., Janssen-Heininger, Y.M. (2014) Hydrogen peroxide as

- a damage signal in tissue injury and inflammation: murderer, mediator, or messenger? *Journal of Cell Biochemistry*, **115**, 427–435.
59. Bienert, G.P., Schjoerring, J.K., Jagn, T. (2006) Membrane transport of hydrogen peroxide, *Biochim. Biophys Acta*, **1758**, 994–1003.
 60. Bienert, G.P., Chaumont, F. (2014) Aquaporin-facilitated transmembrane diffusion of hydrogen peroxide, *Biochimica et Biophysica Acta*, **1840**, 1596–1604.
 61. Bestetti, S., Medraño-Fernandez, I., Galli M., Ghitti, M., Bienert, G., Musco, G., Orsi, A., Rubartelli, A., Sitia, R. (2018) A persulfidation-based mechanism controls aquaporin-8 conductance, *Science Advances*, **4**, eaar5770.
 62. Forman, H.J., Bernardo, A., Davies, K.J.A. (2016) What is the concentration of hydrogen peroxide in blood and plasma? *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **603**, 48–53.
 63. Augusto, O., Miyamoto, S. (2011) Oxygen radicals and related species, In: *Principles of Free Radical Biomedicine*. Chapter II, 1–23, Nova Science Publishers, Inc.
 64. Sies, H. (2014) Role of metabolic H₂O₂ generation: redox signaling and oxidative stress, *Journal of Biological Chemistry*, **289**, 8735–8741.
 65. Ma, Q. (2013) Role of Nrf2 in oxidative stress and toxicity, *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, **53**, 401–426.
 66. Schmidlin, C.J., Dodson, M.B., Madhavan, L., Zhang, D.D. (2019) Redox regulation by NRF2 in aging and disease, *Free Radicals in Biology and Medicine*, **34**, 702–707.
 67. Itoh, K., Wakabayashi, N., Katoh, Y., Ishii, T., Igarashi, K., Engel, J.D., Yamamoto, M. (1999) Keap1 represses nuclear activation of antioxidant responsive elements by Nrf2 through binding to the amino-terminal Neh2 domain, *Genes Development*, **13**, 76–86.
 68. Suzuki, T., Yamamoto, M. (2017) Stress-sensing mechanisms and physiological roles of the Keap1-NRF2 system during cellular stress, *Journal of Biological Chemistry*, **292**, 16817–16824.
 69. Fourquet, S., Guerois, R., Biard, D., Toledano, M.B. (2010) Activation of NRF2 by nitrosative agents and H₂O₂ involves KEAP1 disulfide formation, *Journal of Biological Chemistry*, **285**, 8463–8471.
 70. Rouzer, C.A., Marnett, L.J. (2009) Cyclooxygenases: structural and functional insights, *Journal of Lipid Research*, **50**, S29–S34.
 71. Yun, M.R., Park, H.M., Seo, K.W., Lee, S.J., Im, D.S., Kim, C.D. (2010) 5-Lipoxygenase plays an essential role in 4-HNE-enhanced ROS production in murine macrophages via activation of NADPH oxidase, *Free Radical Research*, **44**, 742–750.
 72. Cho, K.-J., Seo, J.-M., Kim, J.-H. (2011) Bioactive lipoxigenase metabolites stimulation of NADPH oxidases and reactive oxygen species, *Molecular Cell*, **32**, 1–5.
 73. Ricciotti, E., FitzGerald, G.A. (2011) Prostaglandins and inflammation, *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, **32**, 986–1000.
 74. Fitzpatrick, F.A. (2004) Cyclooxygenase enzymes: regulation and function, *Current Pharmaceutical Design*, **10**, 577–588.
 75. Uchida, K.M., Shibata, T. (2008) 15-Delta(12,14)-prostaglandin J2: an electrophilic trigger of cellular responses, *Chemical Research in Toxicology*, **21**, 138–144.
 76. Hong, H.Y., Jeon, W.K., Kim, B.C. (2008) Up-regulation of heme oxygenase-1 expression through the Rac1/NADPH oxidase/ROS/p38 signaling cascade mediates the anti-inflammatory effect of 15-deoxy-

- delta 12,14-prostaglandin J2 in murine macrophages, *FEBS Letters*, **582**, 861–868.
77. Andreou, A., Feussner, I. (2009) Lipoxygenases – structure and reaction mechanism, *Phytochemistry*, **70**, 1504–1510.
78. de Carvalho, D.D., Sadok, A., Bour-garel-Rey, V., Gattacceca, F., Penel, C., Lehmann, M., Kovacic, H. (2008) Nox1 downstream of 12-lipoxygenase controls cell proliferation but not cell spreading of colon cancer cells, *International Journal of Cancer*, **122**, 1757–1764.
79. Mahipal, S.V., Subhashini, J., Reddy, M.C., Reddy, M.M., Anilkumar, K., Roy, K.R., Reddy, G.V., Reddanna, P. (2007) Effect of 15-lipoxygenase metabolites, 15-(S)-HPETE and 15-(S)-HETE on chronic myelogenous leukemia cell line K-562: reactive oxygen species (ROS) mediate caspase-dependent apoptosis, *Biochemical Pharmacology*, **74**, 202–214.
80. Li, Q., Mao, M., Qiu, Y., Liu, G., Sheng, T., Yu, X., Wang, S., Zhu, D. (2016) Key role of ROS in the process of 15-lipoxygenase/15-hydroxy eicosatetraenoic acid-induced pulmonary vascular remodeling in hypoxia pulmonary hypertension, *PLoS One*, **11**, e0149164.
81. Soumya, S.J., Binu, S., Helen, A., Reddanna, P., Sudhakaran, P.R. (2013) 15(S)-HETE-induced angiogenesis in adipose tissue is mediated through activation of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway, *Biochemistry and Cell Biology*, **91**, 498–505.
82. Harrison, R. (2002) Structure and function of xanthine oxidoreductase: where are we now? *Free Radicals in Biology and Medicine*, **33**, 774–797.
83. Kostic, D.A., Dimitrievich, D.S., Stoyanovich, G.S., Palic, I.R., Dordevich, A.S., and Ickovski, J.D. (2015) Xanthine oxidase: isolation, assays of activity, and inhibition, *Journal of Chemistry*, Article ID 294858. doi: 10.1155/2015/294858.
84. Enroth, C., Eger, B.T., Okamoto, K., Nishino, T., Nishino, T., Pai, E.F. (2000) Crystal structure of bovine milk dehydrogenase and xanthine oxidase: structure-based mechanism of conversion, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **97**, 10723–10728.
85. Battelli, M.G., Polito, L., Bortolotti, M., Bolognesi, A. (2016) Xanthine oxidoreductase-derived reactive species: physiological and pathological effects, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2016**, 3527579.
86. Matsumoto, S., Koshiishi, I., Inoguchi, T., Nawata, H., Utsumi, H. (2003) Confirmation of superoxide generation via xanthine oxidase in streptozotocin-induced diabetic mice, *Free Radical Research*, **37**, 767–772.
87. Cantu-Medellin, N., Kelley, E.E. (2013) Xanthine oxidoreductase-catalyzed reactive species generation: a process in critical need of reevaluation, *Redox Biology*, **1**, 353–358.
88. Bielski, B.H.J., Cabelli, D.E., Arudi, R.L. (1985) Reactivity of HO_2/O_2 radicals in aqueous solution, *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, **14**, 1041–1100.
89. Kelley, E.E., Khoo, N.K., Hundley, N.J., Malik, U.Z., Freeman, B.A., Tarpey, M.M. (2010) Hydrogen peroxide is the major product of xanthine oxidase, *Free Radicals in Biology and Medicine*, **48**, 493–498.
90. Winterbourn, C.C., Metodiewa, D. (1994) The reaction of superoxide with reduced glutathione, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **314**, 284–290.
91. Gonzalez, F.J. (2005) Role of cytochromes P450 in chemical toxicity

- and oxidative stress: studies with CYP2E1, *Mutation Research*, **569**, 101–110.
92. Мохосоев И.М., Кузнецова Г.П., Альтерман М.А., Бачманова Г.И., Арчаков А.И. (1987) Инактивация восстановленного дитионитом натрия цитохрома Р-450 различного происхождения, *Биохимия*, **52**, 1649–1658.
 93. Singh, S., Rajendran, R., Kuroda, K., Isogai, E., Krstic-Demonacos, M., Demonacos, C. (2016) Oxidative stress and breast cancer biomarkers: the case of the cytochrome P450 2E1, *Journal of Cancer Metastasis Treatment*, **2**, 268–276.
 94. Poulos, T., Johnson, E. (2015) Structures of cytochrome P450 enzymes. In: *Cytochrome P450* (Ortiz de Montellano P. (ed)). Springer, Cham.
 95. Мак, P.J., Denisov, I.G. (2018) Spectroscopic studies of the cytochrome P450 reaction mechanisms, *Biochimica et Biophysica Acta*, **1866**, 178–204.
 96. Batabyal, D., Richards, L.S., Poulos, T.L. (2017) Effects of redox partner binding on cytochrome P450 conformational dynamics, *Journal of American Chemical Society*, **139**, 13193–13199.
 97. Нрусая, Е.Г., Bandiera, S.M. (2015) Involvement of cytochrome P450 in reactive oxygen species formation and cancer. *Advances in Pharmacology*, **74**, 35–84.
 98. Шумянцева В.В., Махова А.А., Булко Т.В., Бернхардт Р., Кузиков А.В., Ших Е.В., Кукес В.Г., Арчаков А.И. (2015) Таурин как модулятор каталитической активности цитохрома P450 3A4, *Биохимия*, **80**, 439 – 448.
 99. Арчаков А.И., Мохосоев И.М. (1989) Модификация белков активным кислородом и их распад, *Биохимия*, **54**, 179–186.
 100. Daiber, A., Bachschmid, M., Beckman, J.S., Munzel, T., Ullrich, V. (2004) The impact of metal catalysis on protein tyrosine nitration by peroxynitrite, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **317**, 873–881.
 101. Daiber, A., Schöneich, C., Schmidt, P., Jung, C., Ullrich, V. (2000) Autocatalytic nitration of P450CAM by peroxynitrite, *Journal of Inorganic Biochemistry*, **81**, 213–220.
 102. Daiber, A., Herold, S., Schöneich, C., Namgaladze, D., Peterson, J.A., Ullrich, V. (2000) Nitration and inactivation of cytochrome P450BM-3 by peroxynitrite. Stopped-flow measurements prove ferryl intermediates, *European Journal of Biochemistry*, **267**, 6729–6739.
 103. Rosen, G.M., Tsai, P., Pou, S. (2002) Mechanism of free-radical generation by nitric oxide synthase, *Chemical Reviews*, **102**, 1191–1200.
 104. Zhou, L., Zhu, D.-Y. (2009) Neuronal nitric oxide synthase: structure, subcellular localization, regulation, and clinical implications, *Nitric Oxide*, **20**, 223–230.
 105. Green, S.J., Mellouk, S., Hoffman, S.L., Meltzer, M.S., Nacy, C.A. (1990) Cellular mechanisms of nonspecific immunity to intracellular infection: cytokine-induced synthesis of toxic nitrogen oxides from L-arginine by macrophages and hepatocytes, *Immunology Letters*, **25**, 15–19.
 106. Green, S.J., Scheller, L.F., Marletta, M.A., Seguin, M.C., Klotz, F.W., Slayter, M., Nelson, B.J., Nacy, C.A. (1994) Nitric oxide: cytokine-regulation of nitric oxide in host resistance to intracellular pathogens, *Immunology Letters*, **43**, 87–94.
 107. Wallace, J.L., Ianaro, A., Flannigan, K.L., Cirino, G. (2015) Gaseous mediators in resolution of

- inflammation, *Seminars in Immunology*, **27**, 227–233.
108. Förstermann, U., Münzel, T. (2006) Endothelial nitric oxide synthase in vascular disease, *Circulation*, **113**, 1708–1714.
109. Costa, E.D., Rezende, B.A., Cortes, S.F., Lemos, V.S. (2016) Neuronal nitric oxide synthase in vascular physiology and diseases, *Frontiers in Physiology*, **7**, 206.
110. Lind, M., Hayes, A., Capmda, M., Petrovic, D., Rodrigo, L., Kruzliak, P., Zulli, A. (2017) Inducible nitric oxide synthase: good or bad? *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **93**, 370–375.
111. Lacza, Z., Pankotai, E., Busija, D.W. (2009) Mitochondrial nitric oxide synthase: current concepts and controversies, *Frontiers in Biosciences (Landmark Ed)*, **14**, 4436–4443.
112. Klatt, P., Pfeiffer, S., List, B.M., Lehner, D., Glatter, O., Bachinger, H.P., Werner, E.R., Schmidt, K., Mayer, B. (1996) Characterization of heme-deficient neuronal nitric oxide synthase reveals a role for heme in subunit dimerization and binding of the amino acid substrate and tetrahydrobiopterin, *Journal of Biological Chemistry*, **271**, 7336–7342.
113. Schmidt, P.P., Lange, R., Gorren, A.C., Werner, E.R., Mayer, B., Andersson, K.K. (2001) Formation of a protonated trihydrobiopterin radical cation in the first reaction cycle of neuronal and endothelial nitric oxide synthase detected by electron paramagnetic resonance spectroscopy, *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, **6**, 151–158.
114. List, B.M., Klosch, B., Volker, C., Gorren, A.C., Sessa, W.C., Werner, E.R., Kukovetz, W.R., Schmidt, K., Mayer, B. (1997) Characterization of bovine endothelial nitric oxide synthase as a homodimer with down-regulated uncoupled NADPH oxidase activity: tetrahydrobiopterin binding kinetics and role of haem in dimerization, *Biochemical Journal*, **323**, 159–165.
115. Piazza, M., Guillemette, J.G., Dieckmann, T. (2015) Dynamics of nitric oxide synthase-calmodulin interactions at physiological calcium concentrations, *Biochemistry*, **54**, 1989–2000.
116. Spratt, D.E., Taiakina, V., Palmer, M., Guillemette, J.G. (2007) Differential binding of calmodulin domains to constitutive and inducible nitric oxide synthase enzymes, *Biochemistry*, **46**, 8288–8300.
117. Hemmens, B., Goessler, W., Schmidt, K., Mayer, B. (2000) Role of bound zinc in dimer stabilization but not enzyme activity of neuronal nitric-oxide synthase, *Journal of Biological Chemistry*, **275**, 35786–35791.
118. Hinchee-Rodriguez, K., Garg, N., Venkatakrishnan, P., Roman, M.G., Adamo, M.L., Masters, B.S., Roman, L.J. (2013) Neuronal nitric oxide synthase is phosphorylated in response to insulin stimulation in skeletal muscle, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **345**, 501–505.
119. Su, Y. (2014) Regulation of endothelial nitric oxide synthase activity by protein-protein interaction, *Current Pharmaceutical Design*, **20**, 3514–3520.
120. Luo, S., Lei, H., Qin, H., Xia, Y. (2014) Molecular mechanisms of endothelial NO synthase uncoupling, *Current Pharmaceutical Design*, **20**, 3548–3553.
121. Berka, V., Liu, W., Wu, G., Tsai, A.L. (2014) Comparison of oxygen-induced radical intermediates in iNOS oxygenase domain with those from nNOS and eNOS, *Journal of Inorganic Biochemistry*, **139**, 93–105.

122. Krzyaniak, M.D., Cruce, A.A., Vennam, P., Lockart, M., Berka, V., Tsai, A.L., Bowman, M.K. (2016) The tetrahydrobiopterin radical interacting with high- and low-spin heme in neuronal nitric oxide synthase – a new indicator of the extent of NOS coupling, *Free Radicals in Biology and Medicine*, **101**, 367–377.
123. Chen, C.A., Druhan, L.J., Varadharaj, S., Chen, Y.R., Zweier, J.L. (2008) Phosphorylation of endothelial nitric-oxide synthase regulates superoxide generation from the enzyme, *Journal of Biological Chemistry*, **283**, 27038–27047.
124. Chen, C.A., Wang, T.Y., Varadharaj, S., Reyes, L.A., Hemann, C., Talukder, M.A., Chen, Y.R., Druhan, L.J., Zweier, J.L. (2010) S-glutathionylation uncouples eNOS and regulates its cellular and vascular function, *Nature*, **468**, 1115–1118.
125. Wu, F., Szczepaniak, W.S., Shiva, S., Liu, H., Wang, Y., Wang, L., Wang, Y., Kelly, E.E., Chen, A.F., Gladwin, M.T., McVerry, B.J. (2014) Nox2-dependent glutathionylation of endothelial NOS leads to uncoupled superoxide production and endothelial barrier dysfunction in acute lung injury. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, **307**, L987–L997.
126. Xia, N., Daiber, A., Habermeier, A., Closs, E.I., Thum, T., Spanier, G., Lu, Q., Oelze, M., Torzewski, M., Lackner, K.J., Munzel, T., Forstermann, U., Li, H. (2010) Resveratrol reverse endothelial nitric oxide synthase uncoupling in apolipoprotein E knockout mice, *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **335**, 149–154.
127. Roe, N.D., Ren, J. (2012) Nitric oxide synthase uncoupling: a therapeutic target in cardiovascular diseases, *Vascular Pharmacology*, **57**, 168–172.
128. De Pascali, F., Hemann, C., Samons, K., Chen, C.A., Zweier, J.L. (2014) Hypoxia and reoxygenation induce endothelial nitric oxide synthase uncoupling in endothelial cells through tetrahydrobiopterin depletion and S-glutathionylation, *Biochemistry*, **53**, 3679–3688.
129. Pryor, W.A., Squadrito, G.L. (1995) The chemistry of peroxynitrite: a product from the reaction of nitric oxide and superoxide, *American Journal of Physiology*, **268**, L699–L722.
130. Squadrito, G.L., Pryor, W.A. (1998) Oxidative chemistry of nitric oxide: the roles of superoxide, peroxynitrite, and carbon dioxide, *Free Radicals in Biology and Medicine*, **25**, 392–403.
131. Goldstein, S., Czapski, G. (1995) The reaction of NO• with O₂ and HO₂: a pulse radiolysis study, *Free Radicals in Biology and Medicine*, **19**, 505–510.
132. Radi, R. (2013) Peroxynitrite, a stealthy biological oxidant, *Journal of Biological Chemistry*, **288**, 26464–26472.
133. Sturzbecher-Höhne, M., Nauser, T., Kissner, R., Koppenol, W.H. (2009) Photon-initiated homolysis of peroxynitrous acid, *Inorganic Chemistry*, **48**, 7307–7312.
134. Lyman, S.V., Khairutdinov, R.F., Hurst, J.K. (2003) Hydroxyl radical formation by O–O bond homolysis in peroxynitrous acid, *Inorganic Chemistry*, **42**, 5259–5266.
135. Ford, E., Hughes, M.N., Wardman, P. (2002) Kinetics of the reactions of nitrogen dioxide with glutathione, cysteine, and uric acid at physiological pH, *Free Radicals in Biology and Medicine*, **32**, 1314–1323.
136. Denicola, A., Souza, J.M., Radi, R. (1998) Diffusion of peroxynitrite

- across erythrocyte membranes, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **95**, 3566–3571.
137. Meli, R., Nauser, T., Latal, P., Koppenol, W.H. (2002) Reaction of peroxynitrite with carbon dioxide: intermediates and determination of the yield of CO_3^- and $^-\text{NO}_2$, *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, **7**, 31–36.
138. Yakovlev, V.A., Mikkelsen, R.B. (2010) Protein tyrosine nitration in cellular signal transduction pathways, *Journal of Receptor and Signal Transduction Research*, **30**, 420–429.
139. Herold, S., Exner, M., Voccini, F. (2003) The mechanism of the peroxynitrite-mediated oxidation of myoglobin in the absence and presence of carbon dioxide. *Chemical Research in Toxicology*, **16**, 390–402.
140. Voccini, F., Herold, S. (2004) Mechanistic studies of the oxidation of oxyhemoglobin by peroxynitrite, *Biochemistry*, **28**, 16393–16404.
141. Осипов А.Н., Борисенко Г.Г., Владимиров Ю.А. (2007) Биологическая активность нитрозильных комплексов гемопротеинов, *Биохимия*, **72**, 1491–1504.
142. Davies, M.J. (2010) Myeloperoxidase-derived oxidation: mechanisms of biological damage and its prevention, *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, **48**, 8–19.
143. Kussendrager, K. D., van Hooijdonk, A.C. (2000) Lactoperoxidase: physico-chemical properties, occurrence, mechanism of action and applications, *British Journal of Nutrition*, **84**, S19–25.
144. Ruf, J., Carayon, P. (2006) Structural and functional aspects of thyroid peroxidase, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **445**, 269–277.
145. Wang, J., Slungaard, A. (2006) Role of eosinophil peroxidase in host defense and disease pathology, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **445**, 256–260.
146. Bathish, B., Turner, R., Paumann-Page, M., Kettle, A.J., Winterbourn, C.C. (2018) Characterization of peroxidase activity in isolated extracellular matrix and direct detection of hypobromous acid formation, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **646**, 120–127.
147. Furtmüller, P.G., Jantschko, W., Zederbauer, M., Jakopitsch, C., Arnhold, J., Obinger, C. (2004) Kinetics of interconversion of redox intermediates of lactoperoxidase, eosinophil peroxidase and myeloperoxidase, *Japanese Journal of Infectious Diseases*, **57**, S30–S31.
148. Winterbourn, C.C., Kettle, A.J., Hampton, M.B. (2016) Reactive oxygen species and neutrophil function, *Annual Review of Biochemistry*, **85**, 765–792.
149. Klebanoff, S.J., Kettle, A.J., Rosen, H., Winterbourn, C.C., Nauseef, W.M. (2013) Myeloperoxidase: a front-line defender against phagocytosed microorganisms. *Journal of Leukocyte Biology*, **93**, 185–198.
150. Senthilmohan, R., Kettle, A.J. (2006) Bromination and chlorination reactions of myeloperoxidase at physiological concentrations of bromide and chloride, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **445**, 235–244.
151. Davies, M.J., Hawkins, C.L., Pattinson, D.I., Rees, M.D. (2008) Mammalian heme peroxidases: from molecular mechanisms to health implications, *Antioxidants & Redox Signaling*, **10**, 1199–1234.
152. Tlili, A., Erard, M., Faure, M.-C., Baudin, X., Piolot T., Dupré-Crochet S., Nüße O. (2012) Stable accumulation of p67^{phox} at the

- phagosomal membrane and ROS production with the phagosome, *Journal of Leukocyte Biology and Medicine*, **91**, 83–95.
153. Панасенко О.М., Горудко И.В., Соколов А.В. (2013) Хлорноватистая кислота как предшественник свободных радикалов в живых системах, *Успехи биологической химии*, **53**, 195–244.
 154. Segal, B.H., Leto, T.L., Gallin, J.I., Malech, H.L., Holland, S.M. (2000) Genetic, biochemical, and clinical features of chronic granulomatous disease, *Medicine*, **79**, 70–200.
 155. Vethanayagam, R.R., Almyroudis, N.G., Grimm, M.J., Lewandowski, D.C., Pham, C.T., Blackwell, T.S., Petraitiene, R., Petraitis, V., Walsh, T.J., Urban, C.F., Segal, B.H. (2011) Role of NADPH oxidase versus neutrophil proteases in antimicrobial host defense, *PLoS One*, **6**, e28149.
 156. Shilon, M.U., MacMickong, J.D., Nicholson, S., Brause, J.E., Potter, S., Marino, M., Fang, F., Dinauer, M., Nathan, C. (1999) Phenotype of mice and macrophages deficient in both phagocyte oxidase and inducible nitric oxide synthase, *Immunity*, **10**, 29–38.
 157. Van der Vliet, A., Eiserich, J.P., Halliwell, B., Cross, C.E. (1997) Formation of reactive nitrogen species during peroxidase-catalyzed oxidation of nitrate. A potential additional mechanism of nitric oxide-dependent toxicity, *Journal of Biological Chemistry*, **272**, 7617–7625.
 158. Gaut, J.P., Byun, J., Tran, H.D., Lauber, W.M., Carroll, J.A., Hotchkiss, R.S., Belaouaj, A., Heinecke, J.W. (2002) Myeloperoxidase produces nitrating oxidants in vivo. *Journal of Clinical Investigation*, **109**, 1311–1319.
 159. Summers, F.A., Morgan, P.E., Davies, M.J., Hawkins, C.L. (2008) Identification of plasma proteins that are susceptible to thiol oxidation by hypochlorous acid and N-chloramines, *Chemical Research in Toxicology*, **21**, 1832–1840.
 160. Storkey, C., Davies, M.J., Pattison, D.I. (2014) Reevaluation of the rate constants for the reaction of hypochlorous acid (HOCl) with cysteine, methionine, and peptide derivatives using a new competition kinetic approach, *Free Radicals in Biology and Medicine*, **73**, 60–66.
 161. Degrossoli, A., Muller, A., Xie, K., Schneider, J.F., Bader, V., Winkhofer, K.F., Meyer, A.J., Leichert, L.I. (2019) Neutrophil-generated HOCl leads to non-specific thiol oxidation in phagocytized bacteria, *eLife*, **7**, 332288.
 162. Nybo, T., Dietrich, S., Gamon, L.F., Chuang, C.Y., Hammer, A., Hoefler, G., Malle, E., Rogowska-Wrzesinska, A., Davies, M.J. (2019) Chlorination and oxidation of the extracellular matrix protein laminin and basement membrane extracts by hypochlorous acid and myeloperoxidase, *Redox Biology*, **20**, 496–513.
 163. Pattison, D.I., Davies, M.J. (2006) Evidence for rapid inter- and intramolecular chlorine transfer reactions of histamine and carnosine chloramines: implications for the prevention of hypochlorous acid-mediated damage, *Biochemistry*, **45**, 8152–8162.
 164. Verrastro, I., Tveen-Jensen, K., Spickett, C.M. (2018) The effect of HOCl-induced modifications on phosphatase and tensin homologue (PTEN) structure and function, *Free Radical Research*, **52**, 232–247.
 165. Colon, S., Page-McCaw, P., Bhave, G. (2017) Role of hypochlorous acids in basement membrane homeostasis, *Antioxidants & Redox Signaling*, **27**, 839–854.

166. van der Veen, B.S., de Winther, M.P., Heeringa, P. (2009) Myeloperoxidase: molecular mechanisms of action and their relevance to human health and disease, *Antioxidants & Redox Signaling*, **11**, 2899–2937.
167. Nicholls, S.J., Hazen, S.L. (2005) Myeloperoxidase and cardiovascular disease, *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, **25**, 1102–1111.
168. Nicholls, S.J., Wilson Tang, W.H., Brennan, D., Brennan, M.L., Mann, S., Nissen, S.E., Hazen, S.L. (2011) Risk prediction with serial myeloperoxidase monitoring in patients with acute chest pain, *Clinical Chemistry*, **57**, 1762–1770.
169. Henderson, J.P., Byun, J., Takeshita, J., Heinecke, J.W. (2003) Phagocytes produce 5-chlorouracil and 5-bromouracil, two mutagenic products of myeloperoxidase, in human inflammatory tissue, *Journal of Biological Chemistry*, **278**, 23522–23528.
170. Takeshita, J., Byun, J., Nhan, T.Q., Pritchard, D.K., Pennathur, S., Schwartz, S.M., Chait, A., Heinecke, J.W. (2005) Myeloperoxidase generates 5-chlorouracil in human atherosclerotic tissue: a potential pathway for somatic mutagenesis by macrophages, *Journal of Biological Chemistry*, **281**, 3096–3104.
171. Ismael, F.O., Barrett, T.J., Sheipouri, D., Brown, B.E., Davies, M.J., Hawkins, C.L. (2016) Role of myeloperoxidase oxidants in the modulation of cellular lysosomal enzyme function: A contributing factor to macrophage dysfunction in atherosclerosis? *PLoS One*, **11**, e0168844.
172. Nybo, T., Cai, H., Gaman, L.F., Rogowska-Wrzesinska, A., Davies, M.J. (2018) Chlorination and oxidation of human plasma fibronectin by myeloperoxidase-derived oxidants, and its consequences for smooth muscle cell function, *Redox Biology*, **19**, 388–400.
173. Colombo, G., Clerici, M., Altomare, A., Rusconi, F., Giustarini, D., Portimaro, N., Garavaglia, M.L., Rossi, R., Dalle-Donne, I., Milzani, A. (2017) Thiol oxidation and di-tyrosine formation in human plasma proteins induced by inflammatory concentrations of hypochlorous acid, *Journal of Proteomics*, **152**, 22–32.
174. He, L., He, T., Farrar, S., Ji, L., Liu, T., Ma, X. (2017) Antioxidants maintain cellular redox homeostasis by elimination of reactive oxygen species. *Cellular Physiology and Biochemistry*, **44**, 532–553.
175. Ursini, F., Maiorino, M., Forman, H.J. (2016) Redox homeostasis: the golden mean of healthy living, *Redox Biology*, **8**, 205–215.
176. Niki, E. (2016) Oxidative stress and antioxidants: distress or eustress? *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **595**, 19–24.
177. Inupakutika, M.A., Sengupta, S., Devireddy, A.R., Azad, R.K., Mittler, R. (2016) The evolution of reactive oxygen species metabolism, *Journal of Experimental Botany*, **67**, 5933–5943.
178. Egea, J., Fabregat, I., Frapart, Y.M., et al. (2017) European contribution to the study of ROS: a summary of the findings and prospects for the future from the COST action BM1203 (EU-ROS), *Redox Biology*, **13**, 94–162.
179. Молдогазиева Н.Т., Терентьев А.А. (2006) Альфа-фетопро-теин и факторы роста: структурно-функциональные взаимоотношения и аналогии, *Успехи биологической химии*, **46**, 99–148.
180. Chaudiere, J., Ferrari-Iliou, R. (1999) Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical me-

- chanisms, *Food and Chemical Toxicology*, **37**, 949–962.
181. Irshad, M., Chaudhuri, P.S. (2002) Oxidant-antioxidant system: role and significance in human body, *Indian Journal of Experimental Biology*, **40**, 1233–1239.
182. Pillai, C.K., Pillai, K.S. (2002) Antioxidants in health, *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*, **46**, 1–5.
183. Андреев, А.Ю., Кушнарева, Ю.Е., Мерфи, А.Н., Старков, А.А. (2015) Митохондриальный метаболизм активных форм кислорода: десять лет спустя, *Биохимия*, **80**, 612–630.
184. Gupta, R.K., Patel, A.K., Shah, N., Chaudhary, A.K., Jha, U.K., Yadav, U.C., Gupta, P.K., Pakuwal, U. (2014) Oxidative stress and antioxidants in disease and cancer: a review, *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, **15**, 4405–4409.
185. Fridovich, I. (1997) Superoxide anion radical (O_2^-), superoxide dismutases, and related matters, *Journal of Biological Chemistry*, **272**, 18515–18517.
186. Fukai, T., Ushio-Fukai, M. (2011) Superoxide dismutases: role in redox signaling, vascular function, and diseases, *Antioxidants & Redox Signaling*, **15**, 1583–1606.
187. Li, Q., Sato, E.F., Kira, Y., Nishikawa, M., Utsumi, K., Inoue, M. (2006) A possible cooperation of SOD1 and cytochrome c in mitochondria-dependent apoptosis, *Free Radicals in Biology and Medicine*, **40**, 173–181.
188. Che, M., Wang, R., Li, X., Wang, X.Y., Zheng, X.F.S. (2016) Expanding roles of superoxide dismutases in cell regulation and cancer, *Drug Discovery Today*, **21**, 143–149.
189. Scibior, D., Czeczot, H. (2006) Catalase: structure, properties, functions, *Postepy Higieny i Medycyny Doswiadczalnej (Online)*, **60**, 170–180.
190. Radi, R., Turrens, J.F., Chang, L.Y., Bush, K.M., Crapo, J.D., Freeman, B.A. (1991) Detection of catalase in rat heart mitochondria, *Journal of Biological Chemistry*, **266**, 22028–22034.
191. Cao, C., Leng, Y., Kufe, D. (2003) Catalase activity is regulated by c-Abl and Arg in the oxidative stress response, *Journal of Biological Chemistry*, **278**, 29667–29675.
192. Dominguez, L., Sosa-Peinado, A., Hansberg, W. (2010) Catalase evolved to concentrate H_2O_2 at its active site, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **500**, 82–91.
193. Dominguez, L., Sosa-Peinado, A., Hansberg, W. (2014) How catalase recognizes H_2O_2 in a sea of water, *Proteins*, **82**, 45–56.
194. Flohe, L. (2016) The impact of thiol peroxidases on redox regulation, *Free Radical Research*, **50**, 126–142.
195. Brigelius-Flohe, R., Maiorino, M. (2013) Glutathione peroxidases, *Biochimica et Biophysica Acta*, **1830**, 3289–3303.
196. Lubos, E., Loscalzo, J., Handy, D.E. (2011) Glutathione peroxidase-1 in health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities, *Antioxidants & Redox Signaling*, **15**, 1957–1997.
197. Wang, L., Zhang, L., Niu, Y., Sitia, R., Wang, C.C. (2014) Glutathione peroxidase 7 utilizes hydrogen peroxide generated by Ero1a to promote oxidative protein folding, *Antioxidants & Redox Signaling*, **20**, 545–556.
198. Espinoza, S.E., Guo, H., Fedarko, N., DeZern, A., Fried, L.P., Xue, Q.L., Leng, S., Beamer, B., Walston, J.D. (2008) Glutathione peroxidase enzyme activity in aging, *Journals of Gerontology. Series A*.

- A Biological Sciences and Medical Sciences*, **63**, 505–509.
199. Ng, C.F., Schafer, F.Q., Buettner, G.R., Rodgers, V.G. (2007) The rate of cellular hydrogen peroxide removal shows dependency on GSH: mathematical insight into in vivo H₂O₂ and GPx concentrations, *Free Radical Research*, **41**, 1201–1211.
200. Flohe, L. (2013) The fairytale of the GSSG/GSH redox potential, *Biochimica et Biophysica Acta*, **1830**, 3139–3142.
201. Калинина Е.В., Чернов Н.Н., Новичкова М.Д. (2014) Роль глутатиона, глутатионтрансферазы и глутаредоксина в регуляции редокс-зависимых процессов, *Успехи биологической химии*, **54**, 299–348.
202. Hopkins, B.L., Neumann, C.A. (2019) Redoxins as gatekeepers of the transcriptional oxidative stress response, *Redox Biology*, **21**, 101104.
203. Шарапов М.Г., Равин В.К., Новоселов В.И. (2014) Пероксиредоксин – многофункциональные ферменты, *Молекулярная Биология*, **48**, 600–628.
204. Rhee, S.G. (2014) Overview on peroxiredoxin. *Molecular Cell*, **39**, 1–5.
205. Rhee, S.G., Kil, I.S. (2017) Multiple functions and regulation of mammalian peroxiredoxins, *Annual Review of Biochemistry*, **86**, 749–775.
206. Portillo-Ledesma, S., Randall, L.M., Parsonage, D., Rizza, J.D., Karplus, P.A., Poole, L.B., Denicola, A., Ferrer-Sueta, G. (2018) Differential kinetics of two-cysteine peroxiredoxin disulfide formation reveal a novel model for peroxide sensing, *Biochemistry*, **57**, 3416–3424.
207. Rhee, S.G., Woo, H.A., Kang, D. (2018) The role of peroxiredoxins in the transduction of H₂O₂ signals, *Antioxidants & Redox Signaling*, **28**, 537–557.
208. Netto, L.E., Antunes, F. (2016) The roles of peroxiredoxin and thioredoxin in hydrogen peroxide sensing and in signal transduction, *Molecular Cell*, **39**, 65–71.
209. Lee, S., Kim, S.M., Lee, R.T. (2013) Thioredoxin and thioredoxin target proteins: from molecular mechanisms to functional significance, *Antioxidants & Redox Signaling*, **18**, 1165–1207.
210. Saccoccia, F., Angelucci, F., Boumis, G., Carotti, D., Desiato, G., Miele, A.E., Bellelli, A. (2014) Thioredoxin reductase and its inhibitors, *Current Protein & Peptide Science*, **15**, 621–646.
211. Yang, K.S., Kang, S.W., Woo, H.A., Hwang, S.C., Chae, H.Z., Kim, K., Rhee, S.G. (2002) Inactivation of human peroxiredoxin I during catalysis as the result of the oxidation of the catalytic site cysteine to cysteine-sulfinic acid, *Journal of Biological Chemistry*, **277**, 38029–38036.
212. Noichri, Y., Palais, G., Ruby, V., D'Autreaux, B., Delaunay-Moisson, A., Nystrom, T., Molin, M., Toledano, M.B. (2015) In vivo parameters influencing 2-Cys Prx oligomerization: the role of enzyme sulfinylation, *Redox Biology*, **6**, 326–333.
213. Lowther, W.T., Haynes, A.C. (2011) Reduction of cysteine sulfinic acid in eukaryotic, typical 2-Cys peroxiredoxins by sulfiredoxin, *Antioxidants & Redox Signaling*, **15**, 99–109.
214. Rhee, S.G., Jeong, W., Chang, T.S., Woo, H.A. (2007) Sulfiredoxin, the cysteine sulfinic acid reductase specific to 2-Cys peroxiredoxin: its discovery, mechanism of action, and biological significance, *Kidney International Supplements*, **106**, S3–S8.

215. Rhee, S.G., Kil, IS. (2016) Mitochondrial H₂O₂ signaling is controlled by the concerted action of peroxiredoxin III and sulfiredoxin: linking mitochondrial function to circadian rhythm, *Free Radicals in Biology and Medicine*, **100**, 73–80.
216. Nimse, S.B., Pal, D. (2015) Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms, *RSC Advances*, **5**, 27986–28006.
217. Hacisevki A. (2009) An overview of ascorbic acid biochemistry, *Journal of Faculty of Pharmacy (Ankara)*, **38**, 233–255.
218. Lee, Y.C., Huang, H.Y., Chang, C.J, Cheng, C.H., Chen, Y.T. (2010) Mitochondrial GLUT10 facilitates dehydroascorbic acid import and protects cells against oxidative stress: mechanistic insight into arterial tortuosity syndrome, *Human Molecular Genetics*, **19**, 3721–3733.
219. May, J.M., Huang, J., Qu, Z.C. (2005) Macrophage uptake and recycling of ascorbic acid: response to activation by lipopolysaccharides, *Free Radicals in Biology and Medicine*, **39**, 1449–1459.
220. Oudemans-van Straaten, H.M., Spoelstra-de Man, A.M., de Waard, M.C. (2014) Vitamin C revisited, *Critical Care*, **18**, 460.
221. Huang, J., May, J.M. (2006) Ascorbic acid protects SH-SY5Y neuroblastoma cells from apoptosis and death induced by beta-amyloid, *Brain Research*, **1097**, 52–58.
222. Chakraborty, A., Ramani, P., Sherlin, H.J., Premkumar, P., Natesan, A. (2014) Antioxidant and pro-oxidant activity of vitamin C in oral environment, *Indian Journal of Dental Research*, **25**, 499–504.
223. Patel, V.S., Sampat, V., Espey, M.G., Sitapara, S., Wang, H., Yang, S., Asby, C.R. Jr., Thomas, D.D., Mantel, L.L. (2016) Ascorbic acid attenuates hyperoxia-compromised host defense against pulmonary bacterial infection, *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, **55**, 511–520.
224. Rochette, L., Ghibu, S., Richard, C., Zeller, M., Cottin, Y., Vergely, C. (2013) Direct and indirect antioxidant properties of α-lipoic acid and therapeutic potential, *Molecular Nutrition & Food Research*, **57**, 114–125.
225. Rochette, L., Ghibu, S., Muresan, A., Vergely C. (2015) Alpha-lipoic acid: molecular mechanisms and therapeutic potential in diabetes, *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, **93**, 1021–1027.
226. Maglione, E., Marrese, C, Migliaro, E, Marcuccio, F., Panico, C., Salvati, C., Citro, G., Quercio, M., Roncagliolo, F., Torello, C., Brufani, M. (2015) Increasing bioavailability of (R)-α-lipoic acid to boost antioxidant activity in the treatment of neuropathic pain, *Acta Biologica et Medica*, **86**, 226–233.
227. Traber, M.G., Atkinson J. (2007) Vitamin E, antioxidant and nothing more, *Free Radicals in Biology and Medicine*, **43**, 4–15.
228. Engin KN. (2009) Alpha-tocopherol: looking beyond an antioxidant, *Molecular Vision*, **15**, 855–860.
229. Kwak JY, Takeshige K, Cheung BS, Minakami, S. (1991) Bilirubin inhibits the activation of superoxide-producing NADPH-oxidase in a neutrophil cell-free system, *Biochimica et Biophysica Acta*, **1076**, 369–373.
230. Abraham, N.G., Kappas, A. (2008) Pharmacological and clinical aspects of heme oxygenase, *Pharmacological Reviews*, **60**, 79–127.
231. Chau, L.Y. (2015) Heme oxygenase-1: emerging target of cancer therapy, *Journal of Biomedical Sciences*, **22**, 22.

232. Xie, R.X., Li, D.W., Liu, X.C., Yang, M.F., Fang, J., Sun, B.L., Zhang, Z.Y., Yang, X.Y. (2017) Carnosine attenuates brain oxidative stress and apoptosis after intracerebral hemorrhage in rats, *Neurochemical Research*, **42**, 541–551.
233. Carrol, L., Karton, A., Radom, L., Davies, M.J., Pattison, D.I. (2019) Carnosine and carnosine derivatives rapidly react with hypochlorous acid to form chloramines and dichloramines, *Chemical Research in Toxicology*, **32**, 513–525.
234. Sarrami, F., Yu, L.J., Karton, A. (2017) Computational design of bio-inspired carnosine-based HOBr antioxidants, *Journal of Computer Aided Molecular Design*, **31**, 905–913.
235. Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M. (2006) Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer, *Chemico-Biological Interactions*, **160**, 1–40.
236. Berlett, B.S., Stadtman, E.R. (1997) Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress, *Journal of Biological Chemistry*, **272**, 20313–20316.
237. Bubb, K.J., Birgisdottir, A.B., Tang, O., Hansen, T., Figtree, G.A. (2017) Redox modification of caveolar proteins in the cardiovascular system – role in cellular signaling and disease, *Free Radicals in Biology and Medicine*, **109**, 61–74.
238. Navarro-Yepes, J., Burns, M., Anandhan, A., Khalimonchuk, O., del Razo, L.M., Quintanilla-Vega, B., Pappa, A., Panayiotidis, M.I., Franco, R. (2014) Oxidative stress, redox signaling, and autophagy: cell death versus survival, *Antioxidants & Redox Signaling*, **21**, 66–85.
239. Waris, G., Ahsan, H. (2006) Reactive oxygen species: role in the development of cancer and various chronic conditions, *Journal of Carcinogenesis*, **5**, 14.
240. Dayem, A.A., Choi, H.Y., Kim, J.H., Cho, S.G. (2010) Role of oxidative stress in stem, cancer, and cancer stem cells, *Cancers (Basel)*, **2**, 859–884.
241. Schmidt, H.H., Stocker, R., Vollbracht, C., Paulsen, G., Riley, D., Daiber, A., Cuadrado, A. (2015) Antioxidants in translational medicine, *Antioxidants & Redox Signaling*, **23**, 1130–1143.
242. Ahmad, K.A., Yuan Yuan D., Nawaz, W., Ze, H., Zhuo, C.X., Talal, B., Taleb, A., Mais, E., Qilong, D. (2017) Antioxidant therapy for management of oxidative stress induced hypertension, *Free Radical Research*, **51**, 428–438.
243. De Oliveira, M.R. (2015) Vitamin A and retinoids as mitochondrial toxicants, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2015**, 140267.
244. Czapski, G., Holcman, J., Bielski, B. H. J. (1994) Reactivity of nitric oxide with simple short-lived radicals in aqueous solutions, *Journal of American Chemical Society*, **116**, 11465–11469.
245. Panasenko, O.M., Briviba K., Klotz, L.O. (1997) Oxidative modification and nitration of human low-density lipoproteins by the reaction of hypochlorous acid with nitrate, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **343**, 254–259.
246. Pattison, D.I., Davies, M.J. (2001) Absolute rate constants for the reaction of hypochlorous acid with protein side chains and peptide bonds, *Chemical Research in Toxicology*, **14**, 1453–1464.
247. Peskin A.V, Low, F.M., Paton, L.N., Maghzal, G.J., Hampton, M.B., Winterbourn, C.C. (2007) The high reactivity of peroxiredoxin 2 with H₂O₂ is not reflected in its reaction with other oxidants and thiol reagents, *Journal of Biological Chemistry*, **282**, 11885–11892.

248. Manevich, Y., Fisher, A.B. (2005) Peroxiredoxin 6, a Cys peroxidoredoxin, functions in antioxidant defense and lung phospholipid metabolism, *Free Radicals in Biology and Medicine*, **38**, 1422–1432
249. Furtmüller, P.G., Zederbauer, M., Jantschko, W., Helm, J., Bogner, M., Jakopitsch, C., Obinger, C. (2006) Active site structure and catalytic mechanisms of human peroxidases, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **445**, 199–213.
250. Bielski, B.H.J., Arudi, R.L., Sutherland, M.W. (1983) A study of the reactivity of HO_2^{\cdot} / $\text{O}_2^{\cdot-}$ with unsaturated fatty acids, *Journal of Biological Chemistry* **258**, 4759–4761.
251. Bielski, B.H.J. (1978) Reevaluation of the spectral and kinetic properties of HO_2^{\cdot} and $\text{O}_2^{\cdot-}$ free radicals, *Photochemistry and Photobiology*, **28**, 645–649.
252. Kissner, R., Nauser, T., Bugnon, P., Lye, P.G., Koppenol, W.H. (1997) Formation and properties of peroxyxynitrite as studied by laser flash photolysis, high-pressure stopped-flow technique, and pulse radiolysis, *Chemical Research in Toxicology*, **10**, 1285–1292.
253. Davies, M.J. (2005) The oxidative environment and protein damage, *Biochimica et Biophysica Acta*, **1703**, 93–109.
254. Repetto, M.G., Boveris, A. (2012) Transition metals: bioinorganic and redox reactions in biological systems. In: *Transition metals: uses and characteristics*, Nova Science Publishers Inc., N-Y., USA, 349–370.
255. Exner, M., Herold, S. (2000) Kinetic and mechanistic studies of the peroxyxynitrite-mediated oxidation of oxymyoglobin and oxyhemoglobin, *Chemical Research in Toxicology*, **13**, 287–293.
256. Madej, E., Folkes, L.K., Wardman, P., Czapski, G., Goldstein, S. (2008) Thyl radicals react with nitric oxide to form S-nitrosothiols with rate constants near the diffusion-controlled limit, *Free Radicals in Biology and Medicine*, **44**, 2013–2018.
257. Trujillo, M., Ferrer-Sueta, G., Radi, R. (2008) Kinetic studies on peroxyxynitrite reduction by peroxidoredoxins. *Methods of Enzymology*, **441**, 173–196.
258. Furtmüller, P. G., Jantschko, W., Zederbauer, M., Schwanninger, M., Jakopitsch, C., Herold, S., Koppenol, W. H., Obinger, C. (2005) Peroxyxynitrite efficiently mediates the interconversion of redox intermediates of myeloperoxidase, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **337**, 944–954.
259. Quijano, C., Hernandez-Saavedra, D., Castro, L., McCord, J.M., Freeman, B.A., Radi, R. (2001) Reaction of peroxyxynitrite with Mn-superoxide dismutase, *Journal of Biological Chemistry*, **276**, 11631–11638.