

## СВОБОДНОРАДИКАЛЬНАЯ ПЕРОКСИДАЦИЯ ЛИПИДОВ, ИНДУЦИРОВАННАЯ АКТИВНЫМИ ФОРМАМИ ГАЛОГЕНОВ

©2024 г. О. М. ПАНАСЕНКО\*,  
Ю. А. ВЛАДИМИРОВ, В. И. СЕРГИЕНКО

*Федеральный научно-клинический центр  
физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина  
Федерального медико-биологического агентства, Москва*

I. Введение. II. Образование активных форм галогенов в живом организме. III. Механизм пероксидации липидов, индуцированной активными формами галогенов. IV. Роль пероксидации липидов, индуцированной активными формами галогенов, в развитии воспалительных заболеваний человека. V. Заключение.

### I. ВВЕДЕНИЕ

Перекисное окисление липидов или, как теперь принято говорить, пероксидация липидов (ПОЛ) представляет собой цепной разветвленный свободнорадикальный процесс, характеризующийся 4-мя стадиями: инициирования (зарождения), продолжения, разветвления и обрыва цепи [1]. Для реализации стадии инициирования в системе должен появиться первый свободный радикал, который и зарождает цепь

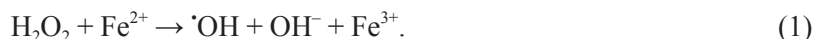
---

*Принятые сокращения:* АФГ – активные формы галогенов; ЛВП – липопротеины высокой плотности; ЛНП – липопротеины низкой плотности; ЛПО – лактопероксидаза; МПО – миелопероксидаза; 4-ПОБН –  $\alpha$ -(4-пиридил-1-оксил)-N-трет-бутилнитрон; ПОЛ – пероксидация липидов; СД – сахарный диабет; СД2Т – сахарный диабет 2-го типа; СОД – супероксиддисмутаза; ТБКРП – продукты ПОЛ карбонильной природы, реагирующие с 2-тиобарбиуровой кислотой; ТПО – тиреоидная пероксидаза; ФБН – N-трет-бутил- $\alpha$ -фенилнитрон; ХЛ – хемилюминесценция; ЭПО – пероксидаза эозинофилов; АОРР (advanced oxidation protein products) – белок, модифицированный под действием АФГ; ВНТ – бутилированный гидрокситолуол (2,6-ди-трет-бутил-4-метилфенол); ДМРС – 1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфохолин; Hal – галоген или псевдогалоген; LH – ненасыщенный липид; L $\cdot$  – липидный радикал; LO $\cdot$  – алкоксильный радикал липида; LOO $\cdot$  – пероксильный радикал липида; LOOH – гидропероксид липида.

\*Адрес для корреспонденции: o-panas@mail.ru

В работе представлены результаты, полученные при поддержке Российского научного фонда, гранты 23-45-10026 (главы II и III) и 20-15-00390-П (глава IV).

свободнорадикальной ПОЛ. Типичным примером такой реакции в организме человека и животных является одноэлектронное восстановление пероксида водорода ионами металлов переменной валентности, в которой образуется чрезвычайно реакционный гидроксильный радикал ( $\cdot\text{OH}$ ) (реакция Фентона) [2, 3]:



Стадия инициирования может быть спровоцирована каким-либо физическим воздействием на биологический объект, например, термическим распадом относительно слабых  $\text{O}-\text{O}$  связей в молекулах пероксидов:



или при фотолизе присутствующих в организме молекул-сенситизаторов, например, ароматических аминокислот, при УФ-облучении которых образуются свободные радикалы [4].

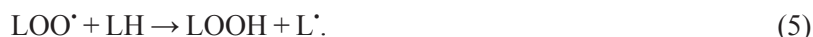
Зарождение цепи ПОЛ легче всего реализуется в результате атаки свободным радикалом  $\text{C}-\text{H}$  связи метиленовой группы ( $-\text{CH}_2-$ ) жирнокислотной цепи липида, расположенной между двумя ненасыщенными связями и имеющей наименьшую энергию разрыва:



Образующийся липидный радикал ( $\text{L}\cdot$ ) в аэробных условиях быстро присоединяет молекулу кислорода, превращаясь в пероксильный радикал (см. рис. 1):



Последний вновь отрывает атом  $\text{H}$  от метиленовой группы другой ненасыщенной жирнокислотной цепи липида ( $\text{LH}$ ), образуя новый липидный радикал:



Чередование двух последних реакций представляет собой стадию продолжения цепи (рис. 1), в которую вовлекаются все новые и новые молекулы липида, при этом один радикал ( $\text{L}\cdot$ ) превращается в другой ( $\text{LOO}\cdot$ ), но их количество не увеличивается. Образующиеся гидропероксиды липидов ( $\text{LOOH}$ ) являются относительно нестойкими соединениями и, например, в присутствии ионов металлов переменной валентности распадаются с образованием алкоксильных радикалов ( $\text{LO}\cdot$ ), что приводит к разветвлению цепей и образованию новых радикалов. Таким образом, классическая ПОЛ представляет собой цепную разветвленную свободнорадикальную реакцию (рис. 1).

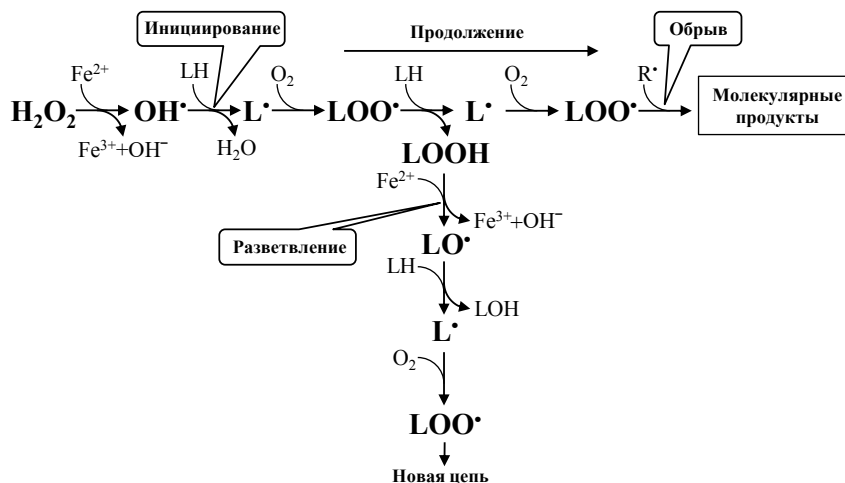


Рис. 1. Схема цепной разветвленной реакции пероксидации липидов.

Указаны стадии иницирования, продолжения, разветвления и обрыва цепи.

Однако свободные радикалы  $L\cdot$  и  $LOO\cdot$  реагируют не только с метиленовой группой жирнокислотной цепи. Они могут рекомбинировать между собой или реагировать с ионами металлов переменной валентности. В результате образуются молекулярные продукты, что приводит к обрыву цепи (стадия обрыва цепи на рис. 1), замедлению и в конечном итоге блокированию ПОЛ. Обрывать цепи окисления и эффективно ингибировать ПОЛ могут так называемые антиоксиданты ( $\alpha$ -токоферол, каротиноиды и др.), которые, реагируя с липидными радикалами, превращаются в долгоживущие, более стабильные чем  $L\cdot$  и  $LOO\cdot$  продукты, как правило, не способные иницировать ПОЛ [5].

Важная роль в зарождении свободнорадикальной цепной ПОЛ принадлежит так называемым молекулам-предшественникам свободных радикалов. Такие молекулы существуют или могут появиться в живом организме. Чаще всего они представляют собой относительно нестойкие соединения пероксидной природы: пероксид водорода ( $H_2O_2$ ), гидропероксиды липидов ( $LOOH$ ), пероксинитрит ( $ONOO\cdot$ ) и другие. В результате спонтанного (термического) распада или реакции с ионами металлов переменной валентности эти молекулы превращаются в свободные радикалы [6].

В последнее время внимание исследователей обращено к еще одной группе молекул, которые обладают повышенной реакционной способностью, образуются в живом организме и в определенных условиях тоже могут быть источниками свободных радикалов. Речь идет о

галогенсодержащих соединениях, получивших название «активные формы галогенов» (АФГ) [7–9]. Ранее в ряде обзорных статей авторы уже обращали внимание на те или иные аспекты повреждения липидов мембранных структур и липопротеинов крови свободными радикалами, образующимися при участии АФГ [8–14]. Однако, до сих пор не было проведено всестороннего анализа возможных механизмов свободнорадикальной ПОЛ, инициированной АФГ. Данный обзор как раз сфокусирован на механизмах образования свободных радикалов с участием АФГ, на инициировании, продолжении и разветвлении цепных реакций ПОЛ, индуцированных этими соединениями и приводящих к деструкции ненасыщенных липидов. Особое внимание сосредоточено на роли АФГ-индуцированных свободнорадикальных реакций ПОЛ в развитии ряда социально-значимых заболеваний человека.

## II. ОБРАЗОВАНИЕ АКТИВНЫХ ФОРМ ГАЛОГЕНОВ В ЖИВОМ ОРГАНИЗМЕ

Источником АФГ в организме человека и животных является семейство гемсодержащих пероксидаз млекопитающих, к основным представителям которого относятся миелопероксидаза (МПО), пероксидаза эозинофилов (ЭПО), лактопероксидаза (ЛПО) и тиреоидная пероксидаза (ТПО) [15]. ТПО – фермент, экспрессируемый, в основном, в щитовидной железе, играет ключевую роль в йодировании остатков Туг и синтезе гормонов щитовидной железы: тироксина и трийодтиронина [16]. ЛПО обнаруживается в различных экзокринных выделениях человека, включая молоко, слюну, слезную жидкость, выполняя там, главным образом, бактерицидную функцию [17]. ЭПО сконцентрирована в матриксе вторичных (специфических) гранул эозинофилов и составляет примерно 5% от общего белка этих гранул или 15 мкг в 1 миллионе клеток [18, 19]. МПО в основном содержится в азурофильных гранулах нейтрофилов в количестве 2–5% от общего клеточного белка или 2–4 мкг в 1 миллионе клеток [20, 21]. Фермент также обнаружен в лизосомах моноцитов, но в заметно меньших количествах (0,9% по весу), постепенно исчезая по мере их перерождения в макрофаги [22, 23].

Активация лейкоцитов при фагоцитозе сопровождается их дегрануляцией, характеризующейся слиянием цитоплазматических гранул с фагосомой, поступлением содержащихся в гранулах бактерицидных белков и ферментов, включая МПО и ЭПО, в фаголизосомальный компартмент, где они реализуют свою бактерицидную функцию [15, 24].

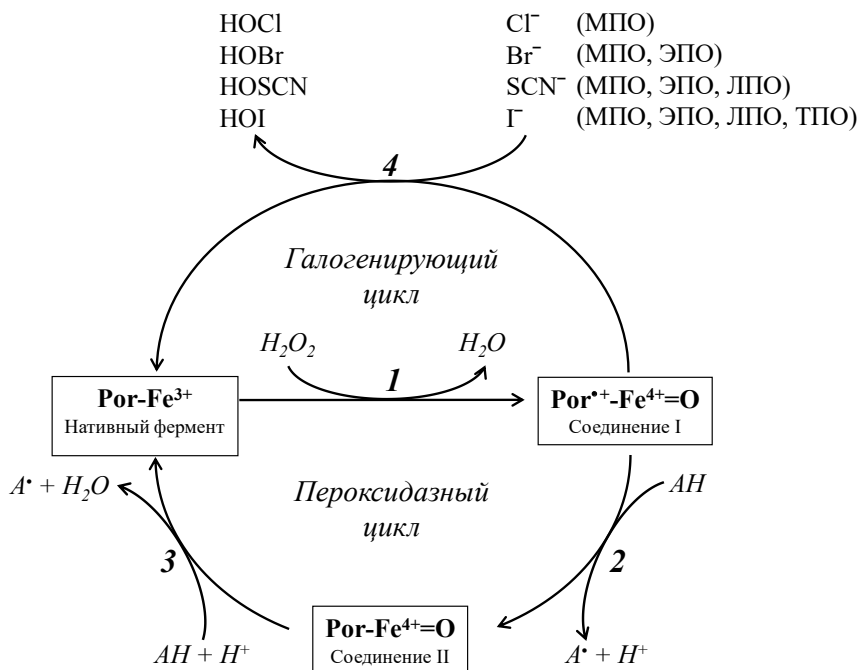
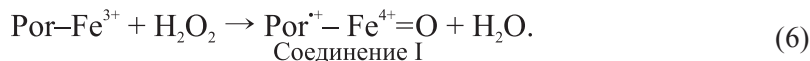


Рис. 2. Схема функционирования пероксидазного и галогенирующего циклов ферментов семейства гемсодержащих пероксидаз млекопитающих, включая миелопероксидазу.

В скобках указаны пероксидазы, способные окислить при физиологических условиях соответствующие галогениды и  $\text{SCN}^-$ .

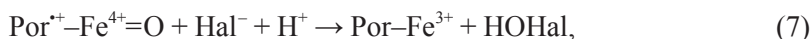
При слиянии гранул с цитоплазматической мембраной происходит частичная секреция их содержимого во внеклеточное пространство. Более 20% МПО секретируют активированные нейтрофилы [25], секреция ЭПО при активации эозинофилов выражена в еще большей степени (~40% массы всего секретированного материала) [26].

Упрощенная схема функционирования ферментов семейства гемсодержащих пероксидаз млекопитающих представлена на рис. 2. Утилизируя молекулу пероксида водорода ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), эти ферменты отдают ей 2 электрона и из нативной ферри-формы ( $\text{Por-Fe}^{3+}$ ) превращаются в так называемое Соединение I:



Гем Соединения I, благодаря оксоферрильной форме железа и  $\pi$ -катион-радикалу порфирина (Por), обладает двумя окислительными

эквивалентами. Это дает возможность осуществлять последовательное одноэлектронное окисление субстратов через образование Соединения II с возвращением в исходное состояние фермента ( $\text{Por-Fe}^{3+}$ ) и замыканием классического пероксидазного цикла (реакции 1, 2 и 3 на рис. 2). В отличие от обычных пероксидаз Соединение I ферментов семейства гемсодержащих пероксидаз млекопитающих обладает уникальной способностью осуществлять 2-х электронное окисление галогенидов ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{I}^-$ ) и псевдогалогенидов ( $\text{SCN}^-$ ) до соответствующих гипогалоидных кислот ( $\text{HOHal}$ ):



(Hal – галоген или псевдогалоген)

замыкая тем самым цикл галогенирования (см. реакции 1 и 4 на рис. 2), который описывается суммарным уравнением:



В таблице 1 приведены кажущиеся константы скорости реакции окисления (псевдо)галогенидов Соединением I МПО, ЭПО и ЛПО при pH 7,0 и 15°C, стандартный окислительно-восстановительный потенциал 2-х электронного окисления (псевдо)галогенидов (pH 7,0), их концентрации в крови. Из табл. 1 следует, что по способности окисляться (псевдо)галогениды располагаются в следующей последовательности:  $\text{SCN}^- > \text{I}^- > \text{Br}^- > \text{Cl}^-$ . Об этом свидетельствуют как стандартные окислительно-восстановительные потенциалы пары  $\text{HOHal}/\text{Hal}^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , так и константы скорости реакции окисления (псевдо)галогенидов Соединением I всех 3-х ферментов. При физиологических значениях pH только Соединение I МПО способно быстро окислять  $\text{Cl}^-$  с образованием  $\text{HOCl}$  [27, 29]. Соединение I ЭПО окисляет  $\text{Cl}^-$  только при кислых значениях pH. Однако при pH 7,0 Соединение I ЭПО гораздо лучше окисляет  $\text{Br}^-$ ,  $\text{I}^-$  и  $\text{SCN}^-$ , нежели Соединение I МПО [30]. Показано, что при нейтральных pH ЛПО имеет едва обнаруживаемую активность в отношении окисления  $\text{Br}^-$ , но очень быстро окисляет  $\text{I}^-$  и  $\text{SCN}^-$  [32]. Все четыре фермента (МПО, ЭПО, ЛПО и ТПО) способны окислить  $\text{I}^-$  до иодноватистой кислоты ( $\text{HOI}$ ), которая при физиологических pH неустойчива и превращается в другие I-содержащие производные [31]. Поскольку концентрация  $\text{I}^-$  в крови, грудном молоке, слюне, тканях (за исключением щитовидной железы) меньше 1 мкМ, то его окисление в организме в естественных условиях пренебрежимо мало [31]. Следует отметить, что помимо окислительно-восстановительных и термодинамических свойств ряд других факторов, таких как размер аниона, его связывание с

**Таблица 1.** Кажущиеся константы скорости реакции окисления (псевдо)галогенидов Соединением I МПО, ЭПО и ЛПО при pH 7,0 и 15°C, стандартный окислительно-восстановительный потенциал 2-х электронного окисления (псевдо)галогенидов (pH 7,0), концентрации (псевдо)галогенидов в крови [27, 28]

| (Псевдо)галогенид<br>(в скобках указана<br>концентрация в крови) | МПО,<br>M <sup>-1</sup> c <sup>-1</sup> | ЭПО,<br>M <sup>-1</sup> c <sup>-1</sup> | ЛПО,<br>M <sup>-1</sup> c <sup>-1</sup> | НОНа/НаГ,<br>Н <sub>2</sub> О<br>В |
|--|---|---|---|------------------------------------|
| Cl <sup>-</sup> (100–140 мМ)                                     | 2,5×10 <sup>4</sup>                     | 3,1×10 <sup>3</sup>                     | –                                       | 1,28                               |
| Br <sup>-</sup> (20–100 мкМ)                                     | 1,1×10 <sup>6</sup>                     | 1,9×10 <sup>7</sup>                     | 4,1×10 <sup>4</sup>                     | 1,13                               |
| I <sup>-</sup> (0,1–0,6 мкМ)                                     | 7,2×10 <sup>6</sup>                     | 9,3×10 <sup>7</sup>                     | 1,2×10 <sup>8</sup>                     | 0,78                               |
| SCN <sup>-</sup> (20–120 мкМ)                                    | 9,6×10 <sup>6</sup>                     | 1,0×10 <sup>8</sup>                     | 2,0×10 <sup>8</sup>                     | 0,56                               |

ферментом, проницаемость к активному центру, структурная организация активного центра определяют влияние pH и субстратной специфичности на восстановление Соединения I до исходной ферриформы фермента [33].

Из вышесказанного следует, что, во-первых, в крови человека содержание МПО значительно превышает уровень других представителей семейства гемсодержащих пероксидаз млекопитающих, поскольку на долю нейтрофилов и моноцитов, в которых содержится МПО, приходится до 80% всех лейкоцитов. Во-вторых, концентрация Cl<sup>-</sup> более чем в 1000 раз превосходит концентрации остальных (псевдо)галогенидов, наконец, при физиологических условиях только Соединение I МПО способно быстро окислить Cl<sup>-</sup> до HOCl. Это дает основание предполагать, что именно МПО выполняет роль главного источника АФГ в крови человека, основным представителем которых, вероятнее всего, должна быть HOCl. Последняя, как известно [8], является предшественником свободных радикалов, а значит может принимать участие в различного рода радикальных реакциях, включая ПОЛ. Об этом свидетельствуют результаты многочисленных исследований, накопившихся в последние 30 лет, которые и будут рассмотрены в последующих разделах этого обзора.

### III. МЕХАНИЗМ ПЕРОКСИДАЦИИ ЛИПИДОВ, ИНДУЦИРОВАННОЙ АКТИВНЫМИ ФОРМАМИ ГАЛОГЕНОВ

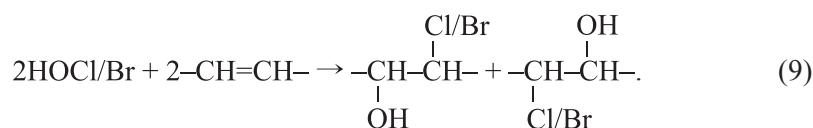
#### АККУМУЛЯЦИЯ ПРОДУКТОВ ПЕРОКСИДАЦИИ ЛИПИДОВ, ИНДУЦИРОВАННОЙ АКТИВНЫМИ ФОРМАМИ ГАЛОГЕНОВ

Известно, что ПОЛ жирнокислотных цепей липидов осуществляется в области локализации их ненасыщенных связей, то есть в гидрофобной углеводородной области липидной фазы биологических мембран, липопротеинов крови и им подобных структур [1], тогда как НОСІ хорошо растворима в воде и должна локализоваться преимущественно в водной фазе. В связи с этим важно было выяснить, способна ли НОСІ проникать в липидную фазу белок-липидных структур. С этой целью было изучено взаимодействие НОСІ, добавленной в водную фазу суспензии липопротеинов низкой плотности (ЛНП) крови человека, с донорами электрона, локализованными в липидной фазе ЛНП. В качестве доноров электрона использовали нитроксильные радикалы – производные стеариновой кислоты с парамагнитным центром, локализованным на разном удалении от карбоксильной группы (у 5-го, 12-го и 16-го С-атома). Известно [34], что парамагнитные аналоги стеариновой кислоты локализуются в фосфолипидном монослое модельных и природных липидных структур таким образом, что карбоксильная группа экспонирована в полярную водную фазу, а жирнокислотная цепь погружена в гидрофобную область параллельно ацильным цепям фосфолипидов. Это давало возможность по исчезновению сигнала ЭПР в результате окисления радикала под действием НОСІ изучить скорость взаимодействия НОСІ с парамагнитными центрами, встроенными в липидную фазу ЛНП на различную глубину, в том числе в область локализации ненасыщенных связей. Оказалось, что нитроксильные радикалы одинаково быстро окислялись добавленной в водное окружение НОСІ не зависимо от глубины их погружения в липидную фазу [35]. Этот факт можно объяснить тем, что проникновение НОСІ в область локализации двойных связей в ЛНП не является лимитирующей стадией регистрируемого окисления. Данный вывод подтверждают результаты, свидетельствующие о том, что молекула НОСІ способна проникать через биологические и липосомальные мембраны [36]. В частности, в работе [37] было показано, что НОСІ окисляла включенный в липосомы флуоресцентный зонд 5-карбоксифлуоресцеин.

Позднее методами иодометрии, ЯМР, хемилюминесценции (ХЛ), спектрофотометрии, хроматографии и масс-спектрометрии в



независимых экспериментах было установлено, что добавление  $\text{HOCl}$  к ненасыщенным липидам сопровождается убылью  $-\text{CH}=\text{CH}-$  связей [38–44]. Однако это вовсе не означает, что их убыль обусловлена именно свободнорадикальными реакциями ПОЛ. Более того, было показано, что  $\text{HOCl}$ , равно как и  $\text{HOBr}$  реагируют с ненасыщенными  $-\text{CH}=\text{CH}-$  связями по механизму электрофильного присоединения без участия свободных радикалов с образованием изомеров хлор- и бромгидринов, соответственно [40, 45–50]:



Тем не менее, первые же попытки зарегистрировать продукты ПОЛ при действии  $\text{HOCl}$  на липидный материал увенчались успехом. В 1992 году мы впервые установили, что добавление  $\text{HOCl}$  к ЛНП приводило к накоплению в них продуктов ПОЛ, представляющих собой карбонильные соединения, реагирующие с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБКРП) [51]. В этом же году в работе [52] было показано, что МПО, катализирующая в присутствии хлорида и  $\text{H}_2\text{O}_2$  ( $\text{МПО} + \text{H}_2\text{O}_2 + \text{Cl}^-$  система) образование  $\text{HOCl}$ , вызывала ПОЛ в фосфолипидных липосомах, регистрируемую по накоплению карбонильных соединений (малонового диальдегида и 4-гидроксиноненала), и в ЛНП – по накоплению диеновых конъюгатов. Позже неоднократно было показано, что обработка липопротеинов крови или липосом из ненасыщенного фосфолипида  $\text{HOCl}$ , а также их инкубация в присутствии функционирующей МПО, катализирующей образование  $\text{HOCl}$ , сопровождалась аккумуляцией типичных продуктов, обычно выявляемых при иницировании ПОЛ традиционными способами: первичных молекулярных продуктов – диеновых конъюгатов и гидропероксидов липидов [10, 38, 42, 51, 53–56], вторичных продуктов карбонильной природы – ТБКРП [10, 38, 42, 44, 51, 52, 57–61], конечных флуоресцирующих в видимой области спектра продуктов (типа оснований Шиффа), образующихся при взаимодействии окисленного липида с белком [59, 62].  $\text{HOCl}$ , добавленная в качестве реагента или продуцируемая системой  $\text{МПО} + \text{H}_2\text{O}_2 + \text{Cl}^-$ , приводила к накоплению продуктов ПОЛ также в плазме крови [63, 64] и клетках различного происхождения: хондроцитах [65], клеточной линии нейробластомы человека SH-SY5Y [66], эпителиальных клетках легкого A549 [67].

Инкубация ЛНП с МПО при использовании в качестве субстрата вместо галогенида тиоцианата ( $\text{SCN}^-$ ) вызывала в них пероксидацию

липидов, регистрируемую по накоплению таких продуктов ПОЛ, как диеновые конъюгаты и гидропероксиды. Цианид, азид, каталаза, а также природные антиоксиданты аскорбат и билирубин ингибировали ПОЛ, доказывая причастность к этому МПО и свободных радикалов. Присутствие хлорида не влияло на пероксидацию липидов [68]. Не смотря на то, что образующаяся по катализируемой МПО реакции (8) гипотиоциановая кислота (HOSCN) заметно менее сильный окислитель нежели HOCl или HOBr (см. стандартный окислительно-восстановительный потенциал в табл. 1),  $SCN^-$ , судя по константе скорости реакции с Соединением I МПО (см. табл. 1), является самым предпочтительным субстратом для этого фермента. Так или иначе, но система  $МПО + H_2O_2 + SCN^-$  в определенных условиях может быть причиной инициирования ПОЛ в ЛНП [68].

Сравнительное исследование накопления продуктов ПОЛ при добавлении HOCl (1 мМ) к фосфолипидным липосомам (2 мг/мл) с классической системой активации ПОЛ « $Fe^{2+}$  + аскорбат» показало, что прирост диеновых конъюгатов, гидропероксидов липидов, ТБКРП и скорость их образования существенно выше в случае HOCl-индуцированной ПОЛ по сравнению с индукцией ПОЛ в системе « $Fe^{2+}$  + аскорбат» [58].

АФГ-индуцированное накопление продуктов ПОЛ в фосфолипидных липосомах зависит от pH среды [69]. С увеличением pH в диапазоне 6,50–8,15 достоверно увеличивалась HOCl-индуцированная аккумуляция всех регистрируемых продуктов ПОЛ: диеновых конъюгатов, гидропероксидов липидов, ТБКРП. Интересно, что убыль в реакционной среде  $-CH=CH-$  связей и HOCl [69], а также образование хлор- или бромгидринов напротив уменьшались с ростом pH [47, 70, 71]. Такой результат дает основание предположить, что в нейтральной и слабощелочной среде снижается скорость реакции (9) и большее количество ненасыщенных  $-CH=CH-$  связей расходуется на реакции АФГ-индуцированной ПОЛ, что влечет за собой увеличение накопления продуктов ПОЛ.

Само по себе накопление продуктов ПОЛ при HOCl-индуцированном окислении липидов свидетельствует о радикальном механизме данной реакции. Прямым же доказательством участия свободных радикалов в АФГ-индуцированной ПОЛ является факт торможения этого процесса в присутствии их специфических ловушек. В многочисленных исследованиях было установлено, что такие известные антиоксиданты, как  $\alpha$ -токоферол, бутилированный гидрокситолуол (ВНТ, 2,6-ди-*трет*-бутил-4-метилфенол), эбселен (2-фенил-1,2-бензоселеназол-3-он) в микромолярных концентрациях

полностью блокировали накопление продуктов ПОЛ в мицеллах из метиллинолеата, фосфолипидных липосомах и липопротеинах крови в том случае, если ПОЛ инициировали добавлением НОСІ или системой МПО+Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>+СГ, катализирующей образование НОСІ [10, 38, 42, 53, 60, 61, 72].

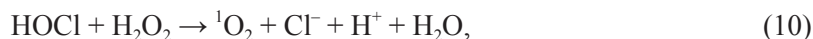
Тот факт, что АФГ-индуцированная пероксидация липидов сопровождается аккумуляцией классических продуктов ПОЛ (первичных, вторичных и конечных) и полностью ингибируется ловушками свободных радикалов, дает основание заключить, что этот процесс представляет собой цепную свободнорадикальную реакцию.

#### СТАДИЯ ИНИЦИИРОВАНИЯ ПЕРОКСИДАЦИИ ЛИПИДОВ АКТИВНЫМИ ФОРМАМИ ГАЛОГЕНОВ

В простой водно-липидной системе, каковой являются фосфолипидные липосомы, стадия инициирования свободнорадикальных реакций, в том числе ПОЛ может быть реализована в результате взаимодействия АФГ с присутствующими молекулами или их функциональными группами, которые могут локализоваться как в самих липосомах, так и в водном окружении. В водной фазе акт инициирования может быть обусловлен реакцией АФГ с пероксидом водорода (Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>), супероксид-анион-радикалом (<sup>•</sup>О<sub>2</sub><sup>-</sup>) или ионами металлов переменной валентности (Fe<sup>2+</sup>, Cu<sup>+</sup>), присутствие которых в инкубационной среде в следовых количествах нельзя исключить полностью. В водном растворе могут присутствовать и кислородсодержащие соединения хлора, образующиеся при распаде НОСІ. Рассмотрим сначала возможное участие наиболее вероятных водорастворимых интермедиатов в инициировании АФГ-индуцированной ПОЛ.

#### *Роль водорастворимых интермедиатов в инициировании НОСІ-индуцированной пероксидации липидов*

Известно, что в воде всегда присутствуют следовые количества Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub> (~10<sup>-8</sup>М), образующегося в результате естественного радиолиза Н<sub>2</sub>О [73]. НОСІ реагирует с Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub> по реакции:



в результате которой синтезируется синглетный кислород (<sup>1</sup>О<sub>2</sub>), способный взаимодействовать с ненасыщенными связями липидов в 1500 раз активнее триплетного с образованием гидропероксидов [74]. Если Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub> действительно принимает участие в инициировании НОСІ-индуцированной ПОЛ, то небольшие его добавки в среду инкубации липосом с НОСІ должны приводить к увеличению выхода

продуктов ПОЛ. Однако, как показали проведенные эксперименты [38, 42], добавка к липосомам  $\text{H}_2\text{O}_2$  в концентрации вплоть до  $10^{-5}$  М и последующая инкубация с  $\text{НОСл}$  не привели к накоплению в них дополнительных количеств продуктов ПОЛ. Дальнейшее увеличение концентрации  $\text{H}_2\text{O}_2$  сопровождалось уменьшением выхода продуктов ПОЛ, обусловленное, вероятно, снижением концентрации  $\text{НОСл}$  в результате прямого взаимодействия  $\text{НОСл}$  с  $\text{H}_2\text{O}_2$  по реакции (10). Более того, предварительная инкубация липосом в присутствии  $10^{-10}$ – $10^{-8}$  М каталазы, которая, как известно [75], в таких концентрациях полностью разлагает  $\text{H}_2\text{O}_2$  в водной среде, не снижала выхода продуктов ПОЛ после их инкубации с  $\text{НОСл}$ . Оба факта свидетельствуют против участия  $\text{H}_2\text{O}_2$  и  $^1\text{O}_2$  в  $\text{НОСл}$ -индуцированной ПОЛ.

Следующим реальным претендентом на роль интермедиата, приводящего к инициированию  $\text{НОСл}$ -индуцированной ПОЛ, является  $\cdot\text{O}_2^-$ , который может образоваться в водной фазе, например, в результате одноэлектронного восстановления молекулярного кислорода ионами  $\text{Fe}^{2+}$  по реакции [74]:

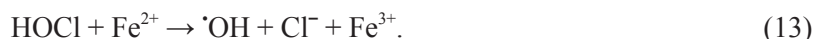


И хотя сам по себе  $\cdot\text{O}_2^-$  взаимодействует с липидами крайне медленно [74], тем не менее, еще в 1980 году было постулировано образование по реакции:



гидроксильного радикала – эффективного инициатора ПОЛ [76]. Впоследствии это предположение было подтверждено экспериментально [77]. Если реакция (12) действительно имеет место, то предварительная инкубация липосом с супероксиддисмутазой (СОД) – ферментом, элиминирующим  $\cdot\text{O}_2^-$ , должна предотвращать аккумуляцию в них продуктов ПОЛ. Однако добавление СОД в широком диапазоне концентраций ( $10^{-10}$ – $10^{-7}$  М) не повлияло на выход продуктов ПОЛ в липосомах после их инкубации с  $\text{НОСл}$ . Это позволило исключить  $\cdot\text{O}_2^-$  из числа возможных инициаторов  $\text{НОСл}$ -индуцированной ПОЛ [42].

Ионы металлов переменной валентности, в частности  $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$  могут появляться в водной фазе биологических жидкостей в результате высвобождения из транспортирующих их металлопротеинов: гемоглобина, трансферрина, ферритина, лактоферрина и др. Было показано, что  $\text{НОСл}$  реагирует с  $\text{Fe}^{2+}$  с образованием гидроксильных радикалов по реакции, аналогичной реакции Фентона (см. реакцию (1)) [72, 77]:



Для реакции HOCl с  $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$  рассчитанная константа скорости при pH 7,2 составила  $114 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  [72], что как минимум в 2 раза превышает таковую для реакции Фентона [3]. Причем, с уменьшением pH скорость реакции (13) возрастала, указывая на то, что реакционной формой является молекула кислоты (HOCl), а не гипохлорит-анион (OCl<sup>-</sup>).

При сравнении в одинаковых условиях реакции (13) с реакцией Фентона (реакция (1)) было показано, что обе они сопровождаются ХЛ, интенсивность которой возрастала с увеличением концентрации  $\text{Fe}^{2+}$ . Однако амплитуда вспышки была заметно интенсивнее в случае реакции (13). Сравнительное исследование спектров ХЛ системы « $\text{Fe}^{2+} + \text{HOCl}$ » и реактива Фентона ( $\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2$ ) показало, что они близки и имеют наибольшее свечение в диапазоне 430–600 нм с максимумом в области 500–510 нм. Добавление спиновой ловушки *N-трет*-бутил- $\alpha$ -фенилнитрона (ФБН) в изучаемые системы приводило к снижению ХЛ пропорционально концентрации ловушки, а регистрируемый спектр ЭПР свидетельствовал об образовании аддукта  $\cdot\text{OH}$ -радикала [78]. Все эти результаты подтверждают образование гидроксильного радикала в реакции (13), которая может претендовать на стадию инициирования HOCl-индуцированной ПОЛ. Однако последующие исследования, проведенные методом ХЛ в присутствии фосфолипидных липосом [60, 79], а также прямое добавление  $\text{Fe}^{2+}$  в реакционную среду, содержащую липосомы и HOCl, не подтвердили участие ионов  $\text{Fe}^{2+}$  в иницировании HOCl-индуцированной ПОЛ [38, 42].

Важно отметить, что предварительная инкубация липосом с HOCl в течение 40–60 мин приводила к росту амплитуды быстрой вспышки ХЛ, индуцированной последующим добавлением в реакционную смесь  $\text{Fe}^{2+}$ . Более того, добавка  $\text{Fe}^{2+}$  вызывала значительный прирост содержания ТБКРП в липосомах. Обнаруженные эффекты возрастали как по мере увеличения концентрации HOCl в среде инкубации с липосомами, так и по мере продолжительности времени инкубации липосом с HOCl [60, 79]. Данный результат легко объяснить, если учесть, что накопившиеся за время инкубации липосом с HOCl гидропероксиды (LOOH) при добавлении  $\text{Fe}^{2+}$ , согласно схеме рис. 1, разлагаются с образованием алкоксильных ( $\text{LO}\cdot$ ), алкильных ( $\text{L}\cdot$ ), и пероксильных ( $\text{LOO}\cdot$ ) радикалов, которые в результате вторичных реакций дают ТБКРП. Рекомбинация пероксильных радикалов сопровождается ХЛ [80, 81]:



Амплитуда быстрой вспышки ХЛ, регистрируемой при добавлении  $\text{Fe}^{2+}$ , прямо пропорциональна содержанию гидропероксидов в ненасыщенных липидах [80, 81].

Таким образом, полученные результаты указывают на то, что ионы металлов переменной валентности не принимают участие на стадии инициирования НОСІ-индуцированной ПОЛ. Однако, разлагая гидропероксиды, они могут играть важную роль в разветвлении цепей ПОЛ, инициированной АФГ. В пользу этого говорит тот факт, что гемоглобин, обработанный НОСІ, разлагается с высвобождением ионов железа в форме, способной усиливать ПОЛ [82, 83]. Десферриоксамин – эффективный хелатор ионов железа примерно в 5–6 раз снижал выход продуктов НОСІ-индуцированной ПОЛ, свидетельствуя в пользу высвобождения ионов Fe из гемоглобина во время его модификации НОСІ [82].

Гипогалогениты ( $\text{ONa}^{\ominus}$ ) – нестойкие соединения и в водных растворах склонны к реакциям диспропорционирования, как следует из уравнения, приведенного для ОСГ [84, 85]:



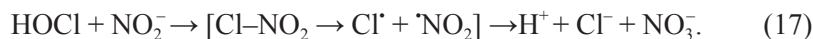
Образующийся хлорат ( $\text{СЮ}_3^{\ominus}$ ) также может претерпевать дальнейшее превращение до перхлората:



В качестве примеси в растворе ОСГ может присутствовать и хлорит ( $\text{СЮ}_2^{\ominus}$ ) [85]. Все указанные кислородсодержащие соединения хлора обладают окислительными свойствами (хотя и выраженными в меньшей степени, чем у НОСІ), и априори нельзя исключить их возможное участие в реакциях НОСІ-индуцированной ПОЛ. В специально проведенных экспериментах было показано, что натриевые соли кислородсодержащих кислот хлора (хлорит, хлорат и перхлорат) во всем диапазоне исследованных концентраций (вплоть до 400 мкМ), во-первых, не способны сами по себе инициировать реакции ПОЛ в фосфолипидных липосомах, во-вторых, они не оказывают влияния на НОСІ-индуцированную аккумуляцию продуктов ПОЛ [86]. Это значит, что зарегистрированная активация свободнорадикальных реакций ПОЛ под действием НОСІ не может быть обусловлена присутствием в среде инкубации в виде примеси хлорита, хлората или перхлората.

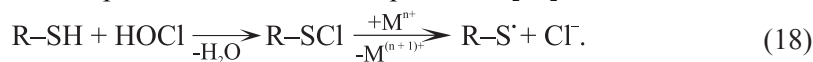
Еще одним претендентом на роль инициатора НОСІ-индуцированной ПОЛ в водной среде является нитрит ( $\text{NO}_2^{\ominus}$ ) – один из главных продуктов окислительного метаболизма оксида азота (NO), продуцируемого многими клетками в результате функционирования

фермента NO-синтазы [87]. Нитрит вступает в реакцию с HOCl, которая описывается суммарным уравнением [88]:



При физиологических pH (7,2) константа скорости реакции (17) равна  $7,4 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$  [72]. Однако механизм этой реакции более сложный, было показано, что она протекает с образованием реакционного интермедиата, предположительно хлористого нитрила (Cl-NO<sub>2</sub>), который крайне неустойчив и в водной среде мгновенно распадается на свободные радикалы (Cl<sup>·</sup> и <sup>·</sup>NO<sub>2</sub>) [72, 88, 89]. Добавление к липопротеинам крови NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, а затем сразу HOCl инициировало бурный прирост в них ТБКРП. ВНТ полностью блокировал накопление продуктов ПОЛ, подтверждая свободнорадикальный механизм этой реакции [72]. Совокупность имеющихся данных позволяет заключить, что короткоживущий реакционный интермедиат, образующийся в водной фазе в ходе реакции (17), способен инициировать свободнорадикальные реакции ПОЛ в липопротеинах крови. Смесь HOCl + NO<sub>2</sub><sup>-</sup> вызывает в белке образование радикала Tug [90], который образуется также в пероксидазном цикле МПО при окислении Tug Соединениями I и II (см. рис. 2). Tug-радикал – известный инициатор свободнорадикальных реакций ПОЛ в ЛНП [91, 92]. Другая возможность МПО-индуцированного усиления ПОЛ в ЛНП в присутствии нитрита не связана с образованием HOCl и Cl-NO<sub>2</sub>, а обусловлена окислением NO<sub>2</sub><sup>-</sup> в пероксидазном цикле МПО до радикала <sup>·</sup>NO<sub>2</sub>, который, вероятнее всего, и является инициатором ПОЛ [90].

Методом спиновых ловушек было показано, что в реакции HOCl с Cys и другими низкомолекулярными водорастворимыми тиолами (гомоцистеин, N-ацетилцистеин, цистамин, 3-меркаптопропионовая кислота и др.) образуется тиольный радикал (R-S<sup>·</sup>) [138]. Вероятнее всего, это происходит через образование в качестве интермедиата сульфенилхлорида (R-SCl), который в присутствии ионов металлов переменной валентности, при нагревании или УФ-облучении распадается с образованием тиольного радикала [93]:



В ряде работ на модельных системах было показано, что тиольные радикалы реагируют с ненасыщенными жирнокислотными цепями с образованием пентадиенильных радикалов с константами скорости реакций порядка  $10^7 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$ , что приводит к инициированию ПОЛ [94, 95].

*Взаимодействие активных форм галогенов  
с функциональными группами фосфолипидов*

Известно, что гипогалоидные кислоты не вступают в реакцию с насыщенными связями и карбоксильной группой жирных кислот, а также сложноэфирной группой фосфолипидов [40, 41, 49, 50]. Таким образом, единственной мишенью в жирных кислотах и ацильных цепях фосфолипидов для АФГ остаются ненасыщенные  $-\text{CH}=\text{CH}-$ связи. Как уже было сказано выше, реакция протекает либо по молекулярному (без образования свободных радикалов) механизму электрофильного присоединения гипогалоидных кислот по двойной связи с образованием галогенгидринов, согласно уравнению (9) [43, 46], либо через стадию радикалообразования, инициирующую ПОЛ. Вместе с тем следует отметить, что в «полярных головках» некоторых фосфолипидов присутствуют аминокгруппы – потенциальные мишени для  $\text{HOCl}$  и  $\text{HOBr}$ . В многочисленных независимых экспериментах было показано, что гипогалоидные кислоты не реагируют с заметной скоростью с четвертичным атомом азота фосфохолиновой группы фосфатидилхолина [11, 40, 41, 43, 46, 47, 57, 96, 97], однако довольно быстро реагируют с аминокгруппой фосфатидилэтанолamina и фосфатидилсерина [98], причем, как следует из рис. 3, механизмы этих реакций разные [54]. Примерно с одинаковой скоростью как  $\text{HOCl}$ , так и  $\text{HOBr}$  реагируют с серинфосфатом и этаноламинфосфатом (константы скорости  $3,3 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  и  $1,8 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  для  $\text{HOCl}$  [99] и  $9,3 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  и  $8,8 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  для  $\text{HOBr}$  [48], соответственно). В случае серинфосфата, у которого в соседнем положении с  $\text{NH}_2$ -группой находится карбоксильная группа, образующийся хлорамин нестойкий и быстро в результате последовательных реакций декарбоксилирования и дезаминирования превращается в фосфатидилгликольальдегид без образования свободных радикалов. В случае этаноламинфосфата сначала образуется монохлорамин, при избытке  $\text{HOCl}$  – дихлорамин, которые являются относительно стабильными соединениями. Далее в результате гомолитического разрыва  $\text{N}-\text{Cl}$  связи они медленно распадаются с образованием N-центрированного радикала (рис. 3).

Такие разные механизмы превращения хлораминов в «полярных головках» фосфатидилэтанолamina и фосфатидилсерина приводят к тому, что эти фосфолипиды по-разному участвуют в  $\text{HOCl}$ -индуцированной ПОЛ. Если липосомы из ненасыщенного фосфатидилхолина инкубировать с  $\text{HOCl}$ , то в них развивается ПОЛ, сопровождающаяся накоплением диеновых конъюгатов, пероксидов и ТБКРП [38, 42, 52–54, 57–61]. Включение в такие липосомы насы-



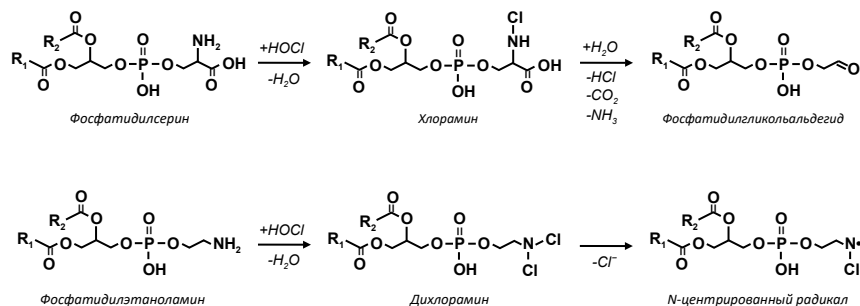


Рис. 3. Схема реакций HOCl с NH<sub>2</sub>-группой фосфатидилсерина и фосфатидилэтанолamina.

ценного фосфатидилэтанолamina (~10%) приводит к образованию свободных радикалов (см. рис. 3), выполняющих роль инициаторов ПОЛ, что увеличивает выход продуктов ПОЛ. Если же к липосомам из ненасыщенного фосфатидилхолина добавляли то же количество фосфатидилсерина, то, как следует из схемы рис. 3, свободных радикалов не образуется. Более того, часть HOCl расходуется на окисление альдегидной группы образовавшегося фосфатидилгликальдегида. В результате выход продуктов ПОЛ снижается [54]. Таким образом, ПОЛ ненасыщенных фосфолипидов может регулироваться их составом: чем больше в смеси фосфолипидов находится ненасыщенных ацильных цепей и фосфатидилэтанолamina, тем можно ожидать более интенсивной HOCl-индуцированной ПОЛ.

Интересно, что аминогруппы аминокислот, пептидов и белков также являются мишенью для АФГ. Гипогалоидные кислоты довольно быстро реагируют с ними с образованием галогенаминов подобно тому, как это представлено на рис. 3 в случае фосфолипидов. Константы скорости реакции HOCl и HOBr с аминогруппой Lys составляют соответственно  $5 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  [100] и  $2,9 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  [101]. При этом образуются сначала N-центрированные радикалы, которые впоследствии стабилизируются путем трансформации в C-центрированные радикалы, что в конечном итоге приводит к разрыву пептидной связи и фрагментации молекулы белка. Такие типы радикалов были идентифицированы с использованием спиновой ловушки 5,5-диметил-1-пирролин-N-оксида. Антиоксиданты (тролокс, аскорбат, глутатион), а также восстановитель хлораминов метионин препятствовали образованию радикалов и фрагментации белка [102, 103].

Авторы работы [55] обратили внимание на тот факт, что при действии HOCl на ЛНП на первом этапе преимущественно расхо-

дуются аминокислотные остатки аполипопротеина В-100 – единственного белка ЛНП, в частности наблюдается хлорирование Lys, продукты ПОЛ еще не накапливаются. Далее наступает период, когда аминокислоты уже не убывают, но начинают накапливаться продукты ПОЛ. На этом этапе обнаруживаются регистрируемые методом ЭПР свободные радикалы, выход которых уменьшается при добавлении в реакционную среду ловушки радикалов или восстановителя хлораминов (метионина), а также в случае, если ЛНП были обеднены антиоксидантом  $\alpha$ -токоферолом. По мнению авторов, образующиеся на первом этапе реакции НОСІ с аминоклуппами Lys липопротеинов хлорамины распадаются с образованием свободных радикалов аналогично хлораминам фосфатидилэтаноламина (рис. 3). Они и являются инициаторами последующих реакций ПОЛ [55]. Таким образом, события, происходящие в белке липопротеинов при действии на них АФГ могут способствовать иницированию свободнорадикальных реакций в липидной фазе, благодаря распаду образующихся хлораминов Lys на свободные радикалы.

#### СТАДИЯ РАЗВЕТВЛЕНИЯ ЦЕПЕЙ НОСІ-ИНДУЦИРОВАННОЙ ПЕРОКСИДАЦИИ ЛИПИДОВ

##### *Роль кислородсодержащих липид-связанных минорных компонентов*

##### *в иницировании НОСІ-индуцированной пероксидации липидов*

В ненасыщенном липиде всегда в качестве примеси присутствуют продукты его спонтанного окисления [104]. Главным образом это первичные молекулярные продукты пероксидной природы: гидропероксиды, диалкил-, алкил-ацил-пероксиды и др. Помимо этого возможно образование также целого ряда карбонильных соединений: альдегидов, кетонов, дающих окрашенный комплекс с ТБК (ТБКРП) и эпоксидов (оксиранов) [74]. Можно предположить, что АФГ способны реагировать с этими минорными соединениями с образованием свободнорадикальных интермедиатов, участвуя, таким образом, в реакциях ПОЛ.

Действительно, при изучении кинетики расходования НОСІ, добавленной в суспензию липосом из ненасыщенного фосфатидилхолина, которую предварительно подвергали автоокислению до разной степени путем инкубации при 37°C, было установлено, что НОСІ исчезала из реакционной смеси тем быстрее, чем больше в липосомах содержалось продуктов ПОЛ. Константа скорости реакции возрастала линейно с ростом концентрации продуктов ПОЛ (гидропероксидов или ТБКРП) в суспензии липосом. В максимально

окисленных липосомах, содержащих 58,2 нмоль/мг пероксидов или 2,83 нмоль/мг ТБКРП, ее значение в ~3 раза превосходило таковое для неокисленных липосом [105]. При этом скорость исчезновения ненасыщенных  $-CH=CH-$  связей в нативных и окисленных липосомах была одинаковой. Более того, бимолекулярная константа скорости образования хлоргидринов по реакции (9) в случае нативных липосом не отличалась (в пределах ошибки эксперимента) от константы, рассчитанной для окисленных липосом [57]. Это значит, что повышение расхода НОС1 в среде ее инкубации с окисленными липосомами происходит не за счет увеличения скорости реакции (9). Поскольку, как отмечалось выше, в нативном ненасыщенном фосфатидилхолине единственной мишенью для НОС1 являются двойные  $-CH=CH-$  связи, то остается предположить, что увеличение скорости реакции НОС1 с предварительно окисленным фосфатидилхолином обусловлено реакцией НОС1 именно с продуктами ПОЛ, образовавшимися в результате автоокисления фосфолипида.

Действительно, НОС1 окисляет альдегиды и метилкетоны до карбоновых кислот. Можно ожидать, что это происходит и в случае НОС1-индуцированной ПОЛ. В подтверждение этого говорит тот факт, что добавление НОС1 к уже окисленным липосомам снижает в них уровень ТБКРП [106]. Вероятнее всего, в среде инкубации липосом с НОС1 протекают две последовательные реакции с участием ТБКРП: первая приводит к их образованию, являясь стадией свободнорадикальной ПОЛ, вторая – окисление карбониллов, входящих в состав ТБКРП, под действием НОС1 без образования свободных радикалов [105]. Прямое взаимодействие НОС1 с карбонилами, во-первых, приводит к их окислению до соответствующих кислот, которые не способны давать окрашенный комплекс с ТБК, во-вторых, сопровождается уменьшением концентрации НОС1. Оба указанных факта снижают концентрацию продуктов ПОЛ в реакционной смеси. Это является, по крайней мере, одной из причин продемонстрированного ранее снижения уровня ТБКРП в липосомах [38] и липопротеинах крови [51] после их инкубации в присутствии сравнительно больших концентраций НОС1. Таким образом, вряд ли карбониллы, входящие в состав ТБКРП, могут претендовать на роль соединений, способствующих НОС1-индуцированной ПОЛ.

Из других продуктов ПОЛ, которые накапливаются при окислении ненасыщенного липида, основными можно считать пероксиды и эпоксиды. В работе [57] было исследовано, реагируют ли АФГ с пероксидами и эпоксидами с образованием продуктов, способных инициировать ПОЛ. Для этого в качестве модельных пероксидов

и эпоксидов был использован набор соединений, приведенных в табл. 2. При добавлении этих пероксидов и эпоксидов к липосомам из 1,2-димиристоил-*sn*-глицеро-3-фосфохолина (DMPC) было показано, что только в том случае, когда в липосомах присутствовали соединения, содержащие гидропероксидную группу (гидропероксиды *трет*-бутила или кумола), наблюдалась убыль НОСІ в реакционной среде. В случае липосом, содержащих другие пероксиды или эпоксиды, концентрация НОСІ не изменялась. Она не изменялась и в том случае, когда НОСІ добавляли к DMPC в отсутствие пероксидов и эпоксидов, подтверждая тот факт, что, как было отмечено выше, НОСІ не реагирует с насыщенным фосфатидилхолином. Такой результат позволяет утверждать, что убыль НОСІ при добавлении ее к липосомам, содержащим  $(\text{CH}_3)_3\text{COOH}$  или гидропероксид кумола, обусловлена взаимодействием НОСІ именно с гидропероксидной группой. Рассчитанные константы скорости реакций НОСІ с  $(\text{CH}_3)_3\text{COOH}$  и гидропероксидом кумола приведены в табл. 2. С диалкил-, диацил- и

**Таблица 2.** Параметры, характеризующие взаимодействие с НОСІ, а также участие в НОСІ-индуцированной ПОЛ, органических пероксидов и эпоксидов [57]

| Название                                    | $k^*$ ,<br>$\text{M}^{-1}\text{c}^{-1}$ | ХЛ**,<br>отн. ед. | Аккумуляция<br>ТБКРП***,<br>нмоль/г |
|---|---|-------------------|-------------------------------------|
| <i>трет</i> -Бутилгидропероксид             | $4,0 \pm 0,4$                           | $141000 \pm 5000$ | $150 \pm 10$                        |
| Гидропероксид кумола                        | $2,3 \pm 0,2$                           | $7050 \pm 420$    | $80 \pm 10$                         |
| Ди- <i>трет</i> -бутилпероксид              | 0                                       | $360 \pm 90$      | 5                                   |
| <i>трет</i> -Бутилпербензоат                | 0                                       | $490 \pm 80$      | 10                                  |
| Дибензоилпероксид                           | 0                                       | $400 \pm 50$      | 5                                   |
| <i>цис</i> -9,10-Эпоксистеариновая кислота  | 0                                       | $420 \pm 90$      | 10                                  |
| 5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -Эпоксид холестерина | 0                                       | $450 \pm 80$      | 0                                   |
| <i>транс</i> -2,3-Эпоксибутан               | 0                                       | $470 \pm 60$      | 5                                   |
| <i>цис</i> -2,3-Эпоксибутан                 | 0                                       | $490 \pm 70$      | 0                                   |
| Контроль (без добавок)                      | 0                                       | $450 \pm 70$      | -                                   |

\* Бимолекулярная константа скорости реакции с НОСІ в суспензии многослойных липосом из DMPC.

\*\* Светосумма ХЛ в течение первых 10 с после добавления НОСІ (2,3 мМ) в кювету хемиллюминиметра, содержащую многослойные липосомы из DMPC (2,5 мМ) и соответствующий пероксид или эпоксид (2 мМ).

\*\*\* Прирост ТБКРП в многослойных липосомах из яичного фосфатидилхолина, содержащих 0,5 мМ пероксидов или эпоксидов, после добавления 50 мкМ НОСІ.

алкил-ацил-пероксидами, а также с эпоксидами НОСІ не вступает в реакцию. Этот вывод был подтвержден при исследовании реакции НОСІ с пероксидами и эпоксидами в растворе (50 мМ фосфатный буфер, рН 7,4). Только  $(\text{CH}_3)_3\text{COOH}$  и гидропероксид кумола вступали в реакцию с НОСІ. Остальные пероксиды и эпоксиды не реагировали с НОСІ [57, 105].

Известно, что свободнорадикальные реакции ПОЛ сопровождаются сверхслабым свечением – ХЛ [1]. В табл. 2 приведены значения светосуммы ХЛ, зарегистрированной после добавления НОСІ в кювету хемилюминометра, содержащую липосомы из DMPC и соответствующий пероксид или эпоксид. Видно, что только органические гидропероксиды (кумола и особенно  $(\text{CH}_3)_3\text{COOH}$ ) вызывали достоверное увеличение ХЛ. В том случае, если липосомы из DMPC заменяли на аналогичные, но из ненасыщенного фосфатидилхолина, в присутствии гидропероксидов в них накапливалось дополнительное количество ТБКРП, чего не происходило, если к липосомам добавляли другие пероксиды или эпоксиды (см. табл. 2). Это еще раз подтверждает тот факт, что гидропероксидная группа (в отличие от диалкил-, диацил-, алкил-ацил-пероксида, а также эпоксида) реагирует с НОСІ, причем реакция, по всей вероятности, сопровождается генерацией интермедиатов, способных усиливать ПОЛ [57].

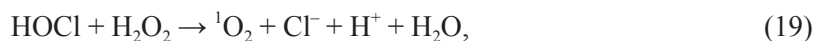
Резюмируя представленные выше результаты, можно отметить, что из всех испытанных кислородсодержащих соединений только гидропероксиды были способны реагировать с НОСІ. Реакция сопровождалась вспышкой ХЛ и вызывала значительный прирост продуктов ПОЛ в ненасыщенных фосфолипидах. Диалкил-, диацил-, алкил-ацил-пероксиды и эпоксиды не проявляли подобных эффектов. Однако, рассмотренные выше гидропероксиды (см. табл. 2) являются третичными, тогда как *in vivo* в липиде присутствуют преимущественно вторичные гидропероксиды жирнокислотных цепей. Последние могут заметно отличаться по химическим свойствам от третичных гидропероксидов. Тем не менее, включение в липосомы из ненасыщенного фосфатидилхолина гидропероксида линолевой кислоты так же существенно увеличивало их окисляемость под действием НОСІ. Накопление в липосомах продуктов ПОЛ возрастало как по мере увеличения концентрации НОСІ, так и гидропероксида линолевой кислоты. Более того, аналогичный эффект наблюдался, если липосомы, содержащие гидропероксид линолевой кислоты, инкубировали в присутствии МПО и субстратов ее галогенирующего цикла: хлорида и  $\text{H}_2\text{O}_2$  [61]. Если в инкубационной среде отсутствовала МПО или хотя бы один из ее субстратов СГ или  $\text{H}_2\text{O}_2$ , то прироста

продуктов ПОЛ не происходило. Накопление продуктов ПОЛ предотвращал ингибитор МПО – азид натрия, перехватчики НОСІ – метионин и таурин, перехватчик свободных радикалов – ВНТ, но не ловушка  $\cdot\text{OH}$ -радикала – маннитол [61].

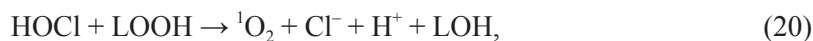
Таким образом, полученные результаты позволяют заключить, что не только реагент НОСІ, но и система «МПО +  $\text{H}_2\text{O}_2$  + СГ» способна за счет образования НОСІ активировать реакции ПОЛ в ненасыщенном липиде. При этом гидропероксиды, всегда присутствующие в качестве примеси в липидной фазе биологических мембран и липопротеинов в результате естественного окисления, могут играть роль того интермедиата, взаимодействие АФГ с которым приводит к ускорению свободнорадикальных реакций ПОЛ.

*Механизм взаимодействия активных форм галогенов  
с органическими гидропероксидами*

Результаты предыдущего раздела указывают на образование в реакции НОСІ с гидропероксидной группой свободных радикалов, что, по-видимому, и является причиной усиления ПОЛ в их присутствии. Однако нельзя исключить, что по аналогии с известной реакцией между НОСІ и  $\text{H}_2\text{O}_2$ , в которой образуется синглетный кислород ( $^1\text{O}_2$ ) [107]:



НОСІ способна вступать в реакцию с гидропероксидом (LOOH), в которой также образуется  $^1\text{O}_2$ :



являющийся, как известно [74, 108, 109], эффективным инициатором ПОЛ. Синглетный кислород обладает так называемой димольной эмиссией:



и мономольной эмиссией:



которые могут быть зарегистрированы в виде ХЛ в видимой (красной) и инфракрасной областях спектра соответственно [107]. Это значит, что ХЛ, обусловленная синглетным кислородом, во-первых, не должна существенно снижаться в присутствии красного светофильтра (с пропусканием  $> 600$  нм) между образцом и детектором. Во-вторых, зависимость интегральной интенсивности свечения в красной области спектра от концентрации НОСІ в соответствии с уравнением (21)

должна носить квадратичный характер (в случае избытка LOOH в реакции (20)). Наконец, известно, что время жизни  $^1\text{O}_2$  в  $\sim 10$  раз продолжительнее в  $\text{D}_2\text{O}$ , чем в  $\text{H}_2\text{O}$  [107]. Это значит, что замена  $\text{H}_2\text{O}$  на  $\text{D}_2\text{O}$  должна приводить к увеличению интенсивности свечения примерно на порядок, если, конечно, ХЛ обусловлена синглетным кислородом. Следует отметить, что в случае реакции (19) все описанные выше закономерности четко подтверждались экспериментально [110, 111]. Однако замена  $\text{H}_2\text{O}_2$  на  $(\text{CH}_3)_3\text{COOH}$  привела к тому, что ни один из доводов в пользу образования  $^1\text{O}_2$  в реакции (20) экспериментально не подтвердился [110, 111]. А именно, красный фильтр практически полностью предотвращал ХЛ. В этих условиях регистрировалось лишь очень слабое свечение с интенсивностью менее 1% от исходного. Ход зависимости интегральной интенсивности свечения в красной области спектра от концентрации HOCl значительно отличался от квадратичной, а замена воды на  $\text{D}_2\text{O}$  приводила даже к некоторому снижению интенсивности ХЛ.

Если все же предположить, что инициатором HOCl-индуцированной ПОЛ является  $^1\text{O}_2$ , то окисление липосом под действием HOCl в среде, приготовленной на  $\text{D}_2\text{O}$ , должно приводить к увеличению времени его жизни, а значит, к интенсификации реакций ПОЛ и, как следствие, к росту выхода продуктов ПОЛ. Но этот факт также не нашел экспериментального подтверждения [110]. Более того, использование хемилюминометра, снабженного детектором на основе германиевого фотодиода, позволяющего непосредственно детектировать мономольное излучение  $^1\text{O}_2$  в инфракрасной области спектра (при 1270 нм) показало, что реакция HOCl с  $\text{H}_2\text{O}_2$  сопровождалась интенсивной вспышкой ХЛ, в случае же реакции (20) мономольного излучения  $^1\text{O}_2$  зарегистрировано не было [110]. Впоследствии эти результаты были подтверждены в работе [53], где было показано, что HOCl реагировала с  $(\text{CH}_3)_3\text{COOH}$  или гидропероксидом метилового эфира линолевой кислоты с образованием пероксильных и/или алкоксильных радикалов, но не синглетного кислорода. Совокупность этих данных убедительно доказывает отсутствие  $^1\text{O}_2$  в качестве продукта в реакции (20). Остается полагать, что в этой реакции образуются свободные радикалы.

Было показано, что HOCl и HOBr реагируют с  $(\text{CH}_3)_3\text{COOH}$  с близкими по величине константами скорости реакций –  $10,8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  и  $8,9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  соответственно [112]. Методом  $^1\text{H}$ -ЯМР установлено, что основным конечным продуктом реакции HOCl с  $(\text{CH}_3)_3\text{COOH}$  является ди-*трет*-бутилпероксид  $(\text{CH}_3)_3\text{CO}-\text{O}-\text{C}(\text{CH}_3)_3$ , образование которого легче всего объяснить через свободнорадикальные интермедиаты, а

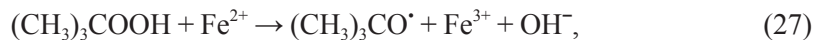
именно через *трет*-бутилалкоксильный  $(\text{CH}_3)_3\text{CO}^\bullet$  или *трет*-бутилпероксильный  $(\text{CH}_3)_3\text{COO}^\bullet$  радикалы [110]:



Реакции  $\text{НОСІ}$  и  $\text{НОВг}$  с  $(\text{CH}_3)_3\text{COOH}$  сопровождались вспышкой ХЛ, интенсивность которой возрастала как по мере увеличения концентрации  $\text{НОСІ/НОВг}$ , так и  $(\text{CH}_3)_3\text{COOH}$ . Свечение регистрировалось в диапазоне 400–550 нм, что не характерно для димольной (634 и 703 нм) и мономольной (1720 нм) эмиссии  ${}^1\text{O}_2$  [113]. В то же время диапазон свечения совпадал с таковым, регистрируемым при добавлении к  $(\text{CH}_3)_3\text{COOH}$  солей  $\text{Ce}^{4+}$  или  $\text{Fe}^{2+}$  [113]. Все закономерности, обнаруженные методом ХЛ при исследовании реакции  $\text{НОСІ/НОВг}$  с  $(\text{CH}_3)_3\text{COOH}$ , качественно совпадали с таковыми, для известной реакции  $(\text{CH}_3)_3\text{COOH}$  с  $\text{Ce}^{4+}$  [114]:

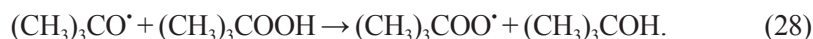


а также для реакции  $(\text{CH}_3)_3\text{COOH}$  с  $\text{Fe}^{2+}$  [115]:



свидетельствуя об образовании радикалов  $(\text{CH}_3)_3\text{COO}^\bullet$  и/или  $(\text{CH}_3)_3\text{CO}^\bullet$ .

Этот результат был убедительно подтвержден методом ЭПР с использованием спиновых ловушек  $\alpha$ -(4-пиридил-1-оксил)-*N*-*трет*-бутилнитрона (4-ПОБН) и ФБН. При добавлении ловушки 4-ПОБН в реакционную среду перед смешиванием  $(\text{CH}_3)_3\text{COOH}$  с  $\text{НОСІ/НОВг}$  регистрировалась суперпозиция двух сигналов ЭПР, соответствующих двум спиновым аддуктам, которые были идентифицированы как аддукты радикалов  $(\text{CH}_3)_3\text{COO}^\bullet$  и  $(\text{CH}_3)_3\text{CO}^\bullet$  [112]. В ряде случаев при использовании спиновых ловушек 4-ПОБН и ФБН регистрировали преимущественно  $(\text{CH}_3)_3\text{COO}^\bullet$  по реакции (23). Однако, согласно реакции (24), пероксильный радикал легко может превращаться в алкоксильный, равно как и наоборот по реакции [113]:



Похожие результаты были получены при исследовании реакции  $\text{НОСІ}$  с гидропероксидом линолевой кислоты [116]. Известно, что при разложении гидропероксидов липидов ионами металлов переменной валентности в присутствии красителя кумарина С-525 регистрируется резкое усиление интенсивности ХЛ [117]. По мнению авторов, это происходит благодаря переносу энергии с



первичных возбужденных продуктов рекомбинации липидных пероксильных радикалов на флуоресцентный уровень молекулы кумарина С-525, что делает возможным использование последнего в качестве чувствительного хемилюминесцентного зонда для детекции гидропероксидов [117, 118]. Добавление НОСІ в среду инкубации линолевой кислоты с липоксигеназой, катализирующей образование гидропероксида линолевой кислоты, сопровождалось вспышкой ХЛ, усиленной кумарином С-525. Интенсивность данной вспышки прямо коррелировала с концентрацией гидропероксида линолевой кислоты в среде инкубации. Анализ спектров ЭПР спиновых аддуктов, образующихся при добавлении НОСІ в среду инкубации линолевой кислоты с липоксигеназой в присутствии спиновой ловушки 4-ПОБН, показал, что в реакции НОСІ с гидропероксидом линолевой кислоты образуется О-центрированный радикал, вероятнее всего, пероксильный или алкоксильный [116]. Эти результаты хорошо согласуются с результатами работы [53], в которой авторы наблюдали НОСІ-индуцированную ПОЛ в липосомах из фосфатидилхолина и в мицеллах из метиллинолеата. В реакции НОСІ с гидропероксидом метиллинолеата образовывались пероксильные и/или алкоксильные радикалы, которые, по мнению авторов, инициировали ПОЛ в ненасыщенном липиде [53].

Интересно, что НОВг, добавленная к липосомам из ненасыщенного фосфатидилхолина, в отличие от НОСІ не вызывала прироста ни ТБКРП [119], ни гидропероксидов [54]. Объяснение этому факту может заключаться в том, что константа скорости реакции (9) с ненасыщенными связями в случае НОВг примерно на 3 порядка больше ( $1,1 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  [48]) по сравнению с константой скорости реакции НОСІ с гидропероксидной группой ( $8,9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  [112]). Это означает, что при действии на ненасыщенные фосфолипиды НОВг преимущественно расходуется на образование бромгидринов по реакции (9) с двойными  $\text{—CH=CH—}$  связями, а не на реакцию (23) с гидропероксидами с образованием свободнорадикальных интермедиатов и в последующем продуктов ПОЛ. В случае же НОСІ константа скорости реакции с гидропероксидом ( $10,8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  [112] или  $43 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  [53]) превосходит таковую для реакции (9) с двойными связями ( $8,7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  [99]). Это делает возможной реакцию НОСІ с гидропероксидной группой по уравнению (23) с образованием пероксильных радикалов в количестве достаточном для активации реакций ПОЛ.

С целью приближения к естественным условиям мы в работе [120] усложнили модель и исследовали разложение гидропероксида в присутствии так называемых НОСІ-образующих систем, а именно

МПО (при соблюдении условий, в которых этот фермент катализирует образование  $\text{НОСл}$ ), а также стимулированных нейтрофилов – клеток, содержащих и секретирующих во внеклеточную среду при активации большое количество МПО. С использованием спиновой ловушки 4-ПОБН было установлено, что МПО в присутствии своих субстратов ( $\text{H}_2\text{O}_2$  и  $\text{Cl}^-$ ), равно как и активированные опсонизированным зимозаном нейтрофилы, изолированные из крови человека, разрушают  $(\text{CH}_3)_3\text{COOH}$  с образованием двух аддуктов О-центрированных радикалов, которые были идентифицированы как пероксильный  $((\text{CH}_3)_3\text{COO}^\bullet)$  и алкоксильный  $((\text{CH}_3)_3\text{CO}^\bullet)$ . Ингибиторный анализ, проведенный с использованием ловушек  $\text{НОСл}$  (таурина и метионина), перехватчиков свободных радикалов (ВНТ и маннитола) и ингибиторов МПО (салицилгидроксамовой кислоты и гидразина 4-аминобензойной кислоты), показал, что разрушение гидропероксидной группы в присутствии изолированной МПО или активированных нейтрофилов обусловлено непосредственно работой фермента МПО. Однако лишь часть радикальных интермедиатов возникает в результате функционирования цикла хлорирования МПО – стадии образования  $\text{НОСл}$  (см. реакции 1, 4 на рис. 2). Другая же часть образовывалась независимо от  $\text{НОСл}$ , по всей видимости, с участием пероксидазного цикла МПО (см. реакции 1, 2, 3 на рис. 2). Это значит, что активированные нейтрофилы, находясь в очагах воспаления и секретируя во внеклеточную среду МПО, могут превращать гидропероксиды в свободные радикалы, усиливая тем самым ПОЛ, а также иницируя другие свободнорадикальные реакции и способствуя деструкции белок-липидных комплексов (биологических мембран, липопротеинов крови и др.). Данное предположение становится более вероятным, если учесть, что количество гидропероксидов в очагах воспаления, как правило, увеличено [74, 104].

Результаты главы III можно резюмировать при помощи схемы, представленной на рис. 4. Хлорит, хлорат и перхлорат, следы которых могут присутствовать в водном окружении липосомальных частиц или белок-липидных комплексов в результате распада  $\text{НОСл}$ , не принимают участия в  $\text{НОСл}$ -индуцированной ПОЛ. То же самое можно сказать про  $^1\text{O}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}_2$ , а также образующийся из них радикал  $^{\bullet}\text{OH}$ , как результат восстановления  $\text{НОСл}$  по реакциям (12) и (13) соответственно, и  $^1\text{O}_2$  – по реакции (10). Удивительно, что такие реакционные интермедиаты, как  $^1\text{O}_2$  и  $^{\bullet}\text{OH}$ , являющиеся признанными инициаторами ПОЛ, никак не проявили себя в случае  $\text{НОСл}$ -индуцированной ПОЛ. Возможно, это связано с тем, что реакции (12) и (13) протекают в водной фазе, а время жизни  $^1\text{O}_2$  и особенно  $^{\bullet}\text{OH}$  настолько мало

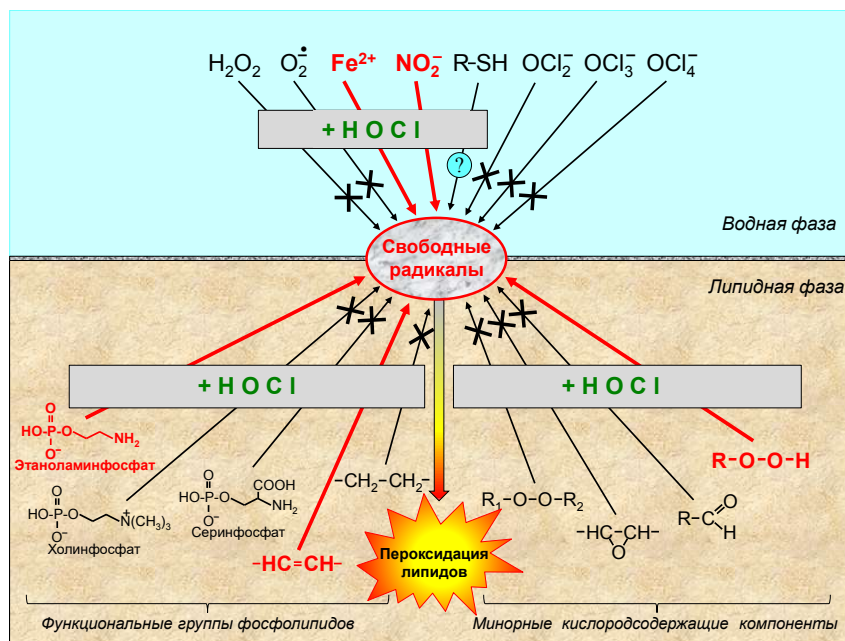


Рис. 4. Схема участия потенциальных водорастворимых компонентов, функциональных групп фосфолипидов и минорных кислородсодержащих примесей ненасыщенного липида в HOCl-индуцированной пероксидации липидов. Пояснения см. в тексте.

(2–3 мкс [121] и ~1 нс [122] соответственно), что они не успевают продиффундировать в гидрофобную липидную область локализации ненасыщенных связей, чтобы инициировать ПОЛ. Участие ионов металлов переменной валентности, в частности Fe<sup>2+</sup>, прежде всего, реализуется на стадии разветвления цепей HOCl-индуцированной ПОЛ (реакция (27)). Вероятным водорастворимым инициатором ПОЛ оказался нитрит-анион (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>), в реакции которого с HOCl (см. реакцию (17)) образуются свободные радикалы, способные запускать ПОЛ в липопротеинах крови. Это становится весьма реально, если учесть, что нитрит может накапливаться в биологических жидкостях в весьма значительных концентрациях [123, 124].

Могут ли тиольные радикалы участвовать в АФГ-индуцированной ПОЛ? Ряд авторов ставят это под сомнение, мотивируя тем, что реакции ПОЛ с участием тиольных радикалов сильно зависят от присутствия в липиде гидропероксидов, а в реакционной среде – ионов металлов переменной валентности [125]. В подтверждение

этого свидетельствуют результаты работы [126], в которой было показано, что при действии  $\text{HOCl}$  на плазму крови человека спиновые аддукты тиольных радикалов не регистрируются. Если тиольные радикалы и образуются в плазме, то, вероятнее всего, они поглощаются белками до того, как запускается ПОЛ [127], что ставит под сомнение возможность инициирования ПОЛ *in vivo* тиольными радикалами, образующимися при участии АФГ.

Что касается событий, происходящих в липидной фазе, то тут следует отметить, что АФГ не реагируют с такими функциональными группами, как насыщенные  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$  связи, карбоксильные группы жирных кислот, сложноэфирные группы триглицеридов и фосфолипидов и холинфосфат фосфатидилхолина. Гипогалоидные кислоты вступают в реакцию с  $\text{NH}_2$ -группой фосфатидилсерина, но это не приводит к образованию свободных радикалов и инициированию ПОЛ. Напротив, в реакции  $\text{HOCl}$  с  $\text{NH}_2$ -группой фосфатидилэтаноламина образовавшиеся хлорамины распадались на N-центрированные радикалы, что приводило к инициированию ПОЛ. Важно, что  $\text{NH}_2$ -группы белка, например, остатки Lys в липопротеинах крови также могут быть галогенированы под действием АФГ с образованием галогенаминов, которые распадаются на свободные радикалы, давая начало цепной ПОЛ.

АФГ не реагировали с такими минорными кислородсодержащими группами, способными появляться в ненасыщенном липиде в результате его автоокисления, как эпоксиды и пероксиды, но вступали в реакцию с гидропероксидами, разветвляя цепи  $\text{HOCl}$ -индуцированной ПОЛ. Наконец, без участия ненасыщенных  $-\text{CH}=\text{CH}-$  связей не может обходиться ПОЛ, в том числе и индуцированная АФГ.

Таким образом, весьма вероятными участниками АФГ-индуцированной ПОЛ можно считать:

- ▶ нитрит и галогенамины фосфатидилэтаноламина и белка – стадия инициирования;
- ▶ ненасыщенные  $-\text{CH}=\text{CH}-$  связи жирнокислотных цепей – стадия инициирования и продолжения цепей;
- ▶ гидропероксиды и ионы металлов переменной валентности – стадия разветвления цепей.

Полностью нельзя исключить участие на стадии инициирования таких реакционных интермедиатов, как  $^1\text{O}_2$  и  $\cdot\text{OH}$ , образующихся в реакциях (10), (12), (13), но только в том случае, если эти реакции протекают в непосредственной близости от локализации ненасыщенных связей жирнокислотных цепей липидной фазы.

#### **IV. РОЛЬ ПЕРОКСИДАЦИИ ЛИПИДОВ, ИНДУЦИРОВАННОЙ АКТИВНЫМИ ФОРМАМИ ГАЛОГЕНОВ, В РАЗВИТИИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА**

МПО и образующиеся в катализируемых ею реакциях АФГ играют ключевую роль в выполнении нейтрофилами и моноцитами защитной бактерицидной функции. При фагоцитозе чужеродных бактерий и прочих патогенов МПО вместе с другими бактерицидными белками попадает из цитоплазматических гранул в фаголизосому в результате их слияния, катализирует там образование АФГ, которые в силу своей высокой реакционной способности уничтожают фагоцитированные микробы. Будучи выраженным поликатионным белком, МПО легко связывается с отрицательно заряженной поверхностью патогенных микроорганизмов, что способствует их гибели [128]. Более того, МПО является обязательным элементом для формирования нейтрофильных внеклеточных ловушек, представляющих собой еще одну МПО-содержащую форму бактерицидного действия нейтрофилов [129].

С другой стороны, часть МПО в результате дегрануляции нейтрофилов, их некроза или нетоза оказывается за пределами клетки, продолжает там катализировать образование АФГ, которые модифицируют практически все биологически важные соединения, включая нуклеиновые кислоты, белки, углеводы, антиоксиданты, липиды, в том числе за счет реакций ПОЛ, что приводит к развитию галогенирующего стресса. Последний характеризуется дисбалансом между усиленным образованием АФГ и сниженной способностью организма удалять или нейтрализовать их избыточное количество [7–9].

В настоящее время накопилось много экспериментальных фактов, свидетельствующих о том, что галогенирующий стресс является причиной возникновения или, как минимум, сопровождает развитие ряда заболеваний, особенно ассоциированных с воспалением, среди которых можно выделить сердечно-сосудистые, эндокринные, нейродегенеративные, аутоиммунные, онкологические и др. [7, 8, 14, 15, 128, 129].

В таблице 3 приведены наиболее часто встречающиеся заболевания, сопровождающиеся воспалительной реакцией организма, которая характеризуется, как правило, активацией фагоцитирующих лейкоцитов: нейтрофилов и моноцитов, представляющих собой важное клеточное звено врожденного иммунного ответа. Характерным признаком активации этих клеток является усиление секреции во внеклеточное пространство МПО – источника АФГ и НАДФН-зависимой продукции АФК – так называемый «кислородный взрыв». Первое из этих двух событий может инициировать галагенирующий стресс, второе

**Таблица 3.** Факты, свидетельствующие о причастности миелопероксидазы, активных форм галогенов и пероксидации липидов к заболеваниям, ассоциированным с воспалением.

| Роль МПО и АФГ (галогенирующий стресс)  | Роль ПОЛ (окислительный стресс)   |
|---|---|
| <p><b>Сердечно-сосудистые заболевания</b></p> <p>Повышенное содержание активной МПО в атеросклеротических бляшках [130–132], локализация с белком, модифицированным НОС [132].</p> <p>Повышение концентрации и активности МПО в крови и лимфатах нейтрофилов коррелирует со степенью выраженности атеросклероза [133–137].</p> <p>Обнаружена независимая связь МПО с атеросклерозом аорты у афроамериканцев [138].</p> <p>В крови больных атеросклерозом увеличено количество МПО, связанной с поверхностью липопротеинов низкой и очень низкой плотности [139].</p> <p>Обнаружение белка, модифицированного НОС, в атеросклеротической бляшке [131, 132, 140], в подвздошной артерии (интима, медиа, адвентиция) [141].</p> <p>Обнаружение повышенного содержания маркера МПО 3-хлортирозина в атеросклеротической бляшке, в ЛНП из пораженной аорты [142], в интима аорты [143], в липопротеинах высокой плотности (ЛВП) плазмы крови [144], в аполипопротеине А-I плазмы крови и атеросклеротической бляшке [145, 146].</p> <p>ЛВП из атеросклеротической интимы аорты человека имели в 8 раз более высокий уровень 3-хлортирозина, чем ЛВП плазмы, и были менее способны удалять холестерин из клеток [147].</p> <p>Обнаружение в атеросклеротической бляшке маркеров МПО и галогенирующего стресса: 2-хлоргексадеканала [148], хлортидринов ацильных цепей липидов [149], 5-хлорурацила [150].</p> <p>Повышенная концентрация МПО в плазме крови – лучший маркер для ранней диагностики острого инфаркта миокарда по сравнению с количеством лейкоцитов или 3-хлортирозина [151].</p> <p>В плазме крови и в ткани предсердия больных с мерцательной аритмией повышена концентрация МПО и 3-хлортирозина [152].</p> <p>Маркер МПО и галогенирующего стресса 2-хлоргексадеканаль накапливается в миокарде экспериментальных крыс, перенесших хирургический инфаркт, и вызывает его сократительную дисфункцию [153].</p> <p>Уровень МПО в плазме крови служит независимым предиктором риска раннего инфаркта миокарда и его последующих осложнений [132].</p> | <p>Инкубация ЛНП с эндотелиоцитами сопровождается ПОЛ, что трансформирует ЛНП в проатерогенную форму, активно поглощаемую макрофагами [154].</p> <p>Антиоксиданты на экспериментальных моделях кроликов и приматов замедляли развитие атеросклероза [154].</p> <p>В крови и артериальной стенке больных атеросклерозом достоверно повышено содержание продукты ПОЛ на фоне снижения активности антиокислительных ферментов [155].</p> <p>Антиоксидант пробукол у больных атеросклерозом на фоне снижения в плазме крови продуктов ПОЛ (липопероксидов и ТБКРП) и одновременного повышения антиокислительных ферментов (супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза) уменьшал частоту приступов стенокардии и содержание холестерина в крови [156].</p> <p>Конечный продукт ПОЛ – белок, модифицированный малоновым диальдегидом, обнаружен в атероме кроликов с гиперхолестеринемией и человека при атеросклерозе [157–159].</p> <p>В аорте человека, пораженной атеросклерозом, накапливались продукты окисления жирнокислотных цепей липидов (в основном 9- и 13-гидрокси изомеры линолевой кислоты) и холестерина по свободнорадикальному (неферментативному) механизму [160, 161].</p> <p>Степень ПОЛ артерий больных атеросклерозом коррелировала со стадией прогрессирования их атеросклеротического поражения [161].</p> <p>Содержание пероксидов липидов в ЛНП больных атеросклерозом значительно (в 8–20 раз) превосходило таковое в случае ЛНП здоровых доноров [162, 163].</p> <p>Содержание 2-пентилтиррольных эпитопов, образующихся в реакции 4-гидрокси-2-ноненала (продукт ПОЛ) с остатками Lys в белке, значительно повышено в плазме и артериальной стенке больных атеросклерозом [164].</p> <p>Рандомизированные двойные слепые плацебо-контролируемые исследования выявили, что использование витаминно-антиоксидантов достоверно снижает риск развития сердечно-сосудистых заболеваний и кардиальной смертности [165–167].</p> |

Продолжение табл. 3 см. на сл. стр.

| Роль МНО и АФГ (галогенирующий стресс)  | Роль ПОЛ (окислительный стресс)   |
|---|---|
| <p><b>Сахарный диабет (СД)</b></p> <p>У больных СД повышена активность МНО, моноциты периферической крови продуцируют больше НОС1 по сравнению со здоровыми донорами [168]. МНО усиливала эндотелиальную дисфункцию при диабете за счет использования образующейся при активации НАДФН-оксидазы, вызванной гипергликемией, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в качестве субстрата галогенирующего цикла и продукции НОС1 [169]. МНО была положительно связана с инсулинрезистентностью и воспалением у лиц с избыточной массой тела [170]. МНО является важным фактором вызванных воспалением метаболических заболеваний и развития резистентности к инсулину [171]. Концентрация МНО повышена в сыворотке [172] и плазме [173] крови больных СД 2-го типа (СД2Т). Существует положительная корреляция между МНО и диабетической нефропатией, а также между МНО и адгезией лейкоцитов к эндотелию [172].</p>   | <p><b>Сахарный диабет (СД)</b></p> <p>Содержание пероксидов липидов в ЛНП больных СД2Т значительно (в ~2,5 раз) превосходит таковое в случае ЛНП здоровых доноров [155, 163]. Совместное окисление ненасыщенного липида и глюкозы усиливает ПОЛ за счет образования O<sub>2</sub><sup>-</sup> в реакции метилглюкокала с остатками Luys. Сахаропонижающая терапия значительно снижает пероксидацию ЛНП у больных СД2Т [174]. В окислительные процессы при СД вовлечены свободные радикалы, возникающие в результате автоокисления глюкозы и ненасыщенного липида [175]. На моделях экспериментальных животных и в крови больных СД обнаружено усиление ПОЛ, сопровождающееся накоплением продуктов ПОЛ (ТБКРП, пероксидов липидов, изопростанов). Антиоксидантная терапия снижала ПОЛ [176, 177].</p> <p>Общая антиокислительная активность плазмы крови была снижена при гипергликемии и у больных СД, как 1-го, так и 2-го типов [177].</p>   |
| <p><b>Ревматоидный артрит</b></p> <p>Значительное повышение концентрации и активности МНО в плазме и особенно в синовиальной жидкости больных ревматоидным артритом способствует развитию окислительного стресса через продукцию НОС1 [178]. В синовиальной жидкости больных ревматоидным артритом 3-хлорпирозин увеличивался с ростом концентрации МНО [178]. В синовиальной жидкости больных ревматоидным артритом присутствует каталитически активная МНО [179]. В сыворотке крови больных ревматоидным артритом наблюдали значительное повышение активности МНО, продуктов ПОЛ (малонového диальдегида) и белка, окисленного под действием НОС1 [180]. Ферментативная активность МНО в сыворотке крови больных ревматоидным артритом положительно коррелировала с уровнем продуктов ПОЛ и белка, окисленного под действием АФГ [180]. Концентрация МНО в сыворотке больных ревматоидным артритом примерно в 2 раза превосходила таковую для здоровых доноров [181]. Уровень МНО в плазме больных ревматоидным артритом в ~1,8 раза превышал таковой для здоровых доноров [182].</p> | <p><b>Ревматоидный артрит</b></p> <p>Уровень окисленных липидов был значительно повышен в цельной крови, плазме, сыворотке, синовиальной жидкости, эритроцитах и моче при ревматоидном артрите [183] и положительно коррелировал со степенью тяжести заболевания [184]. У пациентов с ревматоидным артритом уровень продуктов ПОЛ в сыворотке был значительно выше, а концентрация антиоксидантов витамина E, β-каротина и активность глутатионредуктазы, супероксиддисмутазы в плазме были достоверно ниже, чем у здоровых доноров [185, 186]. В ЛНП больных ревматоидным артритом содержание гидропероксидов липидов превышало уровень таковых в ЛНП здоровых доноров в 20–50 раз [187]. У больных ревматоидным артритом в плазме крови, эритроцитах и жировой ткани показано снижение полиненасыщенных и повышение насыщенных жирнокислотных цепей, что указывает на активацию реакций ПОЛ [183]. Уровень продуктов ПОЛ карбонильной природы (4-гидроксиноненаль, 4-гидроксигексаналь, малоновый диальдегид, акролеин, кротоновый альдегид, 4-оксононеналь) и 8-изопростана значительно повышен в плазме и еще больше в моче больных ревматоидным артритом и коррелировал со степенью тяжести заболевания [188].</p> |

Продолжение табл. 3 см. на сл. стр.

| Роль МНО и АФГ (галогенирующий стресс)  | Роль ПОЛ (окислительный стресс)  |
|---|--|
| <p><b>Нейродегенеративные заболевания</b><br/>(болезни Альцгеймера, Паркинсона, рассеянный склероз, боковой амиотрофический склероз)</p> <p>МНО в отличие от нормальной ткани мозга была обнаружена в микроглии внутри и вокруг очагов поражения головного мозга при рассеянном склерозе [189], а также в микроглии и нейронах мозга при болезни Альцгеймера [190].</p> <p>Продемонстрировано увеличение экспрессии каталитически активной МНО и маркера ее галогенирующего цикла 3-хлортирозина в нейронах мозга при болезни Альцгеймера [191].</p> <p>В плазме крови больных болезнью Альцгеймера концентрация МНО была в ~2,4 раза выше по сравнению со здоровыми донорами и коррелировала со степенью выраженности заболевания [192].</p> <p>МНО экспрессируется в астроцитах мозга экспериментальных мышей и человека с болезнью Альцгеймера. Это способствует инициации ПОЛ, о чем свидетельствует значительное увеличение 4-тидроксиноналя и гидропероксидов фосфолипидов в ткани мозга, и угнетению когнитивных функций у экспериментальных животных [193].</p> <p>Тирозильный радикал и активные формы азота, генерируемые МНО, были вовлечены в поражение мозга у мышей с экспериментальной моделью окислительного стресса болезни Паркинсона [194].</p> <p>МНО активируется в мозговой ткани больных болезнью Паркинсона и экспериментальной модели этого заболевания на мышах. У таких мышей в мозгу накапливаются маркеры хлорированной активности МНО – 3-хлортирозин и белок, модифицированный НОС [195].</p> <p>В томогенатах белого вещества мозга больных рассеянным склерозом активность МНО была значительно повышена по сравнению с контролем [196].</p> | <p>Продукты ПОЛ, включая 4-гидрокси-2-тексенал, изопростаны, нейпростаны, акролеин, малоновый диальдегид повышены в головном мозге при болезни Альцгеймера [197-200].</p> <p>Продукты ПОЛ, включая F<sub>2</sub>-изопростаны, гидроксэйкозатетраеновую кислоту, нейпростаны повышены в плазме крови при болезни Паркинсона [201].</p> <p>Повышение продуктов ПОЛ, включая 4-гидрокси-2-тексенал, малоновый диальдегид и акролеин в тельцах Леви в стволе головного мозга и нейронах неокортекса, а также в спинномозговой жидкости пациентов с болезнью Паркинсона [202].</p> <p>В крови пациентов с боковым амиотрофическим склерозом повышен малоновый диальдегид и 8-гидрокси-2'-дезокситуанозин, одновременно снижен GSH [203, 204].</p> <p>4-Гидрокси-2,3-ноненаль (продукт ПОЛ) был значительно повышен в сыровотке и спинномозговой жидкости пациентов с боковым амиотрофическим склерозом по сравнению с контрольной популяцией и положительно коррелировал со степенью тяжести заболевания [205].</p> <p>Окисленные формы фосфатидилхолина, образующиеся в результате активации ПОЛ, обнаруживаются при рассеянном склерозе, боковом амиотрофическом склерозе, лобно-височной деменции и травмах спинного мозга, представляют собой маркеры окислительного стресса и одновременно являются активными участниками нейродегенерации [206].</p> <p>Пищевые добавки с антиоксидантами (полифенолами, токоферолом, аскорбиновой кислотой и каротиноидами), как правило, замедляли прогрессирование нейродегенеративных заболеваний, восстанавливали физиологические когнитивные функции [202].</p> |

Окончание табл. 3 см. на сл. стр.



Окончание табл. 3.

| Роль МПО и АФГ (галогенирующий стресс)  | Роль ПОЛ (окислительный стресс)  |
|---|--|
| <p><b>Онкологические заболевания</b></p> <p>МПО катализирует преобразование некоторых проканцерогенов в их канцерогенную форму и, таким образом, способствует развитию злокачественных опухолей [207, 208].</p> <p>НОС1 и НОВг, образующиеся при участии МПО и ЭПО, превращают урацил соответственно в 5-хлор урацил и 5-бром урацил, встраивание которых в ядерную ДНК потенциально мутагенно [209–211].</p> <p>Известный биомаркер воспаления 5-хлорцитозин, образующийся при хлорировании цитозина под действием НОС1, проявляет мутагенные свойства, вызывая переходы С → Т с частотой 3–9%, что доказывает связь между хроническим воспалением и раком [212].</p> <p>В реакции НОС1 с ДНК и РНК образуются свободные радикалы, что приводит к одно- и двухцепочечным разрывам нуклеиновых кислот [213].</p> <p>На мышинной модели рака молочной железы показано, что активация МПО и ЭПО увеличивала рост опухоли и усиливала метастазы в легких [214].</p> <p>Некоторые полиморфизмы МПО коррелируют с более высоким риском развития рака легких, яичников и желудка [215–217].</p> | <p>У больших различными видами рака в целом уровни антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы) в основном ниже, тогда как концентрация маркера окислительного стресса 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина и продукта ПОЛ малонового диальдегида выше по сравнению со здоровыми пациентами [218].</p> <p>Альдегиды, образующиеся при ПОЛ, такие как малоновый диальдегид, акролеин, кроновый альдегид и 4-гидрокси-2-ноненаль, реагируют с основными ДНК, образуя промутагенные экзоциклические аддукты ДНК, которые способствуют мутагенным и канцерогенным эффектам [219].</p> <p>Альдегиды, образующиеся при ПОЛ (4-гидроксиноненаль, акролеин) ингибируют репарацию ДНК, способствуя тем самым канцерогенезу [219].</p> <p>Аддукты продуктов ПОЛ карбонильной природы с ДНК были обнаружены в тканях человека при раке горлани, молочной железы, желудка, мочевого пузыря, легких [219].</p> <p>В ряде случаев был продемонстрирован положительный эффект СОД и ее миметиков в доклинических моделях рака предстательной железы [220] и молочной железы [221].</p> |

приводит к развитию окислительного стресса, частым проявлением которого является ПОЛ. Не удивительно, что ассоциированные с воспалением заболевания обычно сопровождаются признаками как галогенирующего стресса, так и ПОЛ (см. табл. 3).

Как следует из табл. 3, сердечно-сосудистые заболевания характеризуются повышением содержания и/или активности МПО в крови [132, 133–137, 151], в комплексе с липопротеинами [139], в атеросклеротической бляшке [130–132], в лейкоцитах [133]; а также биомаркеров МПО/АФГ в крови [152], в липопротеинах [142, 144–147], в стенках сосудов [131, 132, 140–143, 145–150], в миокарде [152, 153]. Интересно, что повышение концентрации и активности МПО в крови и нейтрофилах часто коррелирует со степенью прогрессирования атеросклероза [133–137, 138].

В то же время, сердечно-сосудистая недостаточность характеризуется повышением содержания продуктов ПОЛ в крови [155, 164], в ЛНП [162, 163] и стенке сосудов [155, 157–161, 164], снижением активности антиокислительных ферментов в крови и артериальной стенке [155]. Антиоксиданты на экспериментальных моделях животных замедляли развитие атеросклероза [154], достоверно снижали у человека частоту приступов стенокардии [156], риск развития сердечно-сосудистых заболеваний и кардиальной смертности [165–167]. Важно, что степень пероксидации липидов артерий больных атеросклерозом коррелировала со стадией прогрессирования их атеросклеротического поражения [161] (см. табл. 3).

У больных сахарным диабетом, с одной стороны, в сыворотке [172] и плазме [173] крови повышена концентрация МПО, моноциты периферической крови продуцировали больше НОС1 по сравнению со здоровыми донорами [168]. Установлена положительная корреляция между МПО и диабетической нефропатией, а также между МПО и адгезией лейкоцитов к эндотелию [172]. С другой стороны, как видно из табл. 3, на моделях экспериментальных животных и в крови больных сахарным диабетом обнаружено накопление продуктов ПОЛ: ТБКРП, пероксидов липидов, изопростанов. Антиоксидантная терапия снижала ПОЛ [176, 177]. Содержание пероксидов липидов в ЛНП больных сахарным диабетом 2 типа значительно (в ~25 раз) превосходило таковое в случае ЛНП здоровых доноров [155, 163]. В окислительные процессы при сахарном диабете вовлечены свободные радикалы, возникающие в результате соокисления глюкозы и ненасыщенных липидов [175], а также за счет образования  $\cdot\text{O}_2$  в реакции метилглиоксаля с остатками Lys [174]. Общая антиокислительная активность плазмы крови была снижена

при гипергликемии и у больных сахарным диабетом, как 1-го, так и 2-го типов [177].

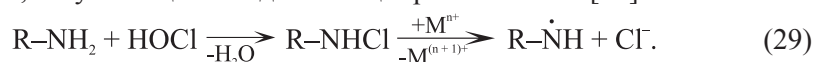
Ревматоидный артрит – хроническое воспалительное заболевание суставов – сопровождается значительным повышением концентрации и активности МПО в крови [178, 180–182] и особенно в синовиальной жидкости [178, 179], а также маркера МПО/АФГ 3-хлортирозина в синовиальной жидкости [178]. В то же время, уровень продуктов ПОЛ был значительно повышен в цельной крови, плазме, сыворотке, липопротеинах крови, синовиальной жидкости, эритроцитах и моче при ревматоидном артрите [183, 185, 187, 188] и положительно коррелировал со степенью тяжести заболевания [184, 188]. При этом концентрация антиоксидантов, таких как витамин Е, β-каротин и активность антиоксидантных ферментов глутатионредуктазы, супероксиддисмутазы в плазме больных были значительно ниже, чем у здоровых доноров [185, 186] (см. табл. 3).

Еще одна группа заболеваний, ассоциированных с воспалением – это нейродегенеративные заболевания: болезни Альцгеймера, Паркинсона, рассеянный склероз, боковой амиотрофический склероз. Как следует из табл. 3, у таких больных повышалась концентрация и/или активность МПО не только в крови [192], но и, главным образом, в микроглии, нейронах и астроцитах мозга [189, 190, 195, 196, 206]. В нейронах мозга обнаруживались также маркеры МПО – 3-хлортирозин и белок, модифицированный НОС1 [191, 195]. Вместе с тем, у таких больных наблюдали повышение продуктов ПОЛ в плазме крови [201], в головном мозге [197–200, 202–204] и спинномозговой жидкости [202, 205], что положительно коррелировало со степенью тяжести заболевания [205]. Пищевые добавки с антиоксидантами (полифенолами, токоферолом, аскорбиновой кислотой и каротиноидами), как правило, замедляли прогрессирование нейродегенеративных заболеваний, восстанавливали физиологические когнитивные функции [202].

Существует не мало указаний на то, что галогенирующей и окислительный стрессы вовлечены в развитие онкологических заболеваний (см. табл. 3) [218, 222, 223]. Как сама МПО, так и образующиеся с ее участием АФГ способны трансформировать некоторые химические соединения в канцерогенную или мутагенную формы [207–212] или повреждать нуклеиновые кислоты, провоцируя в них одно- и двухцепочечные разрывы [213]. На мышинной модели рака молочной железы показано, что активация МПО и ЭПО увеличивала рост опухоли и усиливала метастазы в легких [214]. Было показано, что некоторые полиморфизмы МПО коррелируют с более высоким риском

развития рака легких, яичников и желудка [215–217]. В то же время у больных различными видами рака в целом уровни антиокислительных ферментов (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза и глутатионредуктаза) в основном ниже, тогда как концентрация маркера окислительного стресса 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина и продукта ПОЛ малонового диальдегида выше по сравнению со здоровыми донорами [218]. Альдегиды, образующиеся при ПОЛ, такие как малоновый диальдегид, акролеин, кротоновый альдегид и 4-гидрокси-2-ноненаль, реагируют с основаниями ДНК, образуя промутагенные экзоциклические аддукты ДНК, которые способствуют мутагенным и канцерогенным эффектам и препятствуют репарации ДНК [219]. Аддукты продуктов ПОЛ карбонильной природы с ДНК были обнаружены в тканях человека при раке гортани, молочной железы, желудка, мочевого пузыря, легких [219]. В ряде случаев был продемонстрирован положительный эффект СОД и ее миметиков в доклинических моделях рака предстательной железы [220] и молочной железы [221].

Представленные в табл. 3 данные убедительно демонстрируют важную роль МПО и АФГ при галогенирующем стрессе и АФК и ПОЛ при окислительном стрессе в возникновении и развитии заболеваний, ассоциированных с воспалением. Однако вопрос о причинно-следственной связи между галогенирующим стрессом и ПОЛ в патогенезе указанных заболеваний не так очевиден. В ряде работ авторы обращали внимание на тот факт, что в белок-липидных структурах главной мишенью для АФГ являются серосодержащие функциональные группы аминокислотных остатков Cys и Met, а также аминокислоты Lys, а не липиды. Именно эти аминокислотные остатки в первую очередь разрушаются при воздействии НОС1 на ЛНП [14]. Липиды и антиоксиданты начинают разрушаться, когда мольное соотношение НОС1 : ЛНП становится больше, чем 200 : 1 [14]. Это хорошо согласуется с величинами констант скоростей реакций НОС1 с соответствующими функциональными группами белка [100] и липида [99]. В связи с этим ряд авторов предполагают, что реакция АФГ-индуцированной ПОЛ является вторичной [14, 53, 55]. На первой же стадии НОС1 реагирует с функциональными группами белка, в том числе с аминокислотными группами Lys, в результате чего образуются хлорамины, которые в присутствии ионов металлов переменной валентности распадаются с образованием N-центрированного радикала, запускающего стадию иницирования ПОЛ [55]:



Можно назвать еще ряд косвенных фактов, указывающих в пользу АФГ-индуцированной ПОЛ. Так АФГ разрушают антиоксиданты в липидной фазе [9, 72, 224, 225] и инактивируют антиоксидательные ферменты [226], способствуя ПОЛ. Сама МПО [227–229], а также белок [230], фосфолипиды [231] и липопротеины [232, 233], обработанные АФГ, праймируют и/или активируют НАДФН-оксидазу лейкоцитов, усиливая продукцию АФК, что должно стимулировать ПОЛ. Таурин – известный перехватчик НОС/НОВг – ингибирует ПОЛ, что косвенно указывает на участие АФГ в ее иницировании [234]. В синовиальной жидкости при ревматоидном артрите продукция АФК, включая и свободные радикалы, а также накопление продуктов ПОЛ и белка, модифицированного под действием АФГ (advanced oxidation protein products, AOPP), положительно коррелировали со степенью тяжести заболевания, что косвенно указывает на взаимосвязь галогенирующего стресса и ПОЛ [184].

Zhang с соавт. в 2002 году, используя модель воспаления (перитонит) на нокаутированных по МПО мышцах, предприняли попытку изучить роль МПО в образовании продуктов ПОЛ и развитии окислительного стресса *in vivo*. Методом тандемной масс-спектрометрии с ионизацией электрораспылением (LC/ESI/MS/MS) в липиде, экстрагированном из перитонеального лаважа, определяли продукты ПОЛ: гидрокси- и гидроперокси-эйкозатетраеновые кислоты, F<sub>2</sub>-изопростаны, гидрокси- и гидроперокси-октадекадиеновые кислоты. Индуцированное перитонитом образование всех измеренных продуктов ПОЛ было значительно снижено у нокаутированных по МПО мышей по сравнению с мышцами дикого типа. Авторы сделали вывод о том, что МРО является основным ферментативным катализатором ПОЛ в очагах воспаления *in vivo* [235].

Этот вывод был подтвержден несколько позже авторами работы [180], которые в сыворотке крови больных ревматоидным артритом зафиксировали значительное повышение активности МПО, продуктов ПОЛ и белка, окисленного под действием НОС (AOPP), причем активность МПО положительно коррелировала с уровнем продуктов ПОЛ и AOPP [180]. Между содержанием AOPP и продуктов ПОЛ также наблюдалась достоверная положительная корреляция [180], что подтверждает прямую взаимосвязь между ПОЛ и галогенирующим стрессом в организме человека при ревматоидном артрите. МРО экспрессируется в астроцитах мозга экспериментальных мышей и человека с болезнью Альцгеймера, способствуя иницированию ПОЛ, о чем свидетельствует значительное увеличение 4-гидроксиноненаля и гидропероксидов фосфолипидов в ткани мозга [193].

Таким образом, как следует из главы IV, не только многочисленные эксперименты, проведенные *in vitro*, весьма убедительно свидетельствуют в пользу участия АФГ, образующихся при МПО-зависимом катализе, в иницировании и развитии свободнорадикальных реакций ПОЛ. Результаты исследований, проведенных на моделях экспериментальных животных с воспалительными заболеваниями, а также многих клинических исследований могут быть успешно объяснены с учетом ведущей роли МПО, АФГ и галогенирующего стресса в активации реакций ПОЛ.

## V. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Принимая во внимание совокупность результатов, рассмотренных в обзоре, всю цепь событий, вовлеченных в АФГ-индуцированную ПОЛ, можно представить при помощи схемы, изображенной на рис. 5. Стимуляция нейтрофилов в ответ на патоген при развитии воспалительной реакции организма сопровождается так называемым «кислородным взрывом», в основе которого лежит активация ферментного комплекса НАДФН-оксидазы, катализирующего восстановление молекулы  $O_2$  до  $\cdot O_2^-$  с последующей произвольной или СОД-зависимой дисмутацией  $\cdot O_2^-$  до  $H_2O_2$  (стадия 1 на рис. 5). Вместе с этим усиливается дегрануляция цитоплазматических гранул нейтрофилов с частичной секрецией их содержимого, в том числе и МПО, во внеклеточное пространство (стадия 2 на рис. 5). Высвобождаемая из нейтрофилов МПО катализирует образование НОСІ по реакции (8) (стадия 3 на рис. 5). НОСІ по реакции (29) реагирует с аминокруппами фосфатидилэтаноламина или Lys с образованием хлораминов (стадия 4 на рис. 5), которые распадаются до N-центрированных радикалов (стадия 5 на рис. 5). Параллельно активируется индуцибельная NO-синтаза, а образующийся монооксид азота окисляется до нитрита (стадия 6 на рис. 5), который в реакции (17) с НОСІ дает свободные радикалы (стадия 7 на рис. 5). Образовавшиеся на стадиях 5 и 7 (см. рис. 5) свободнорадикальные интермедиаты запускают иницирование ПОЛ (стадия 8 на рис. 5). Далее следует стадия продолжения цепи, в которой образуются гидропероксиды (LOOH). Последние под действием НОСІ или ионов металлов переменной валентности распадаются на пероксильный и алкоксильный радикалы ( $LOO\cdot$  и  $LO\cdot$ ) (стадии 9 и 10 на рис. 5 соответственно), что приводит к развитию цепного разветвленного процесса ПОЛ (стадия 11 на рис. 5), который может обрываться в результате рекомбинации свободных радикалов, их перехвата антиоксидантами или их восстановления до

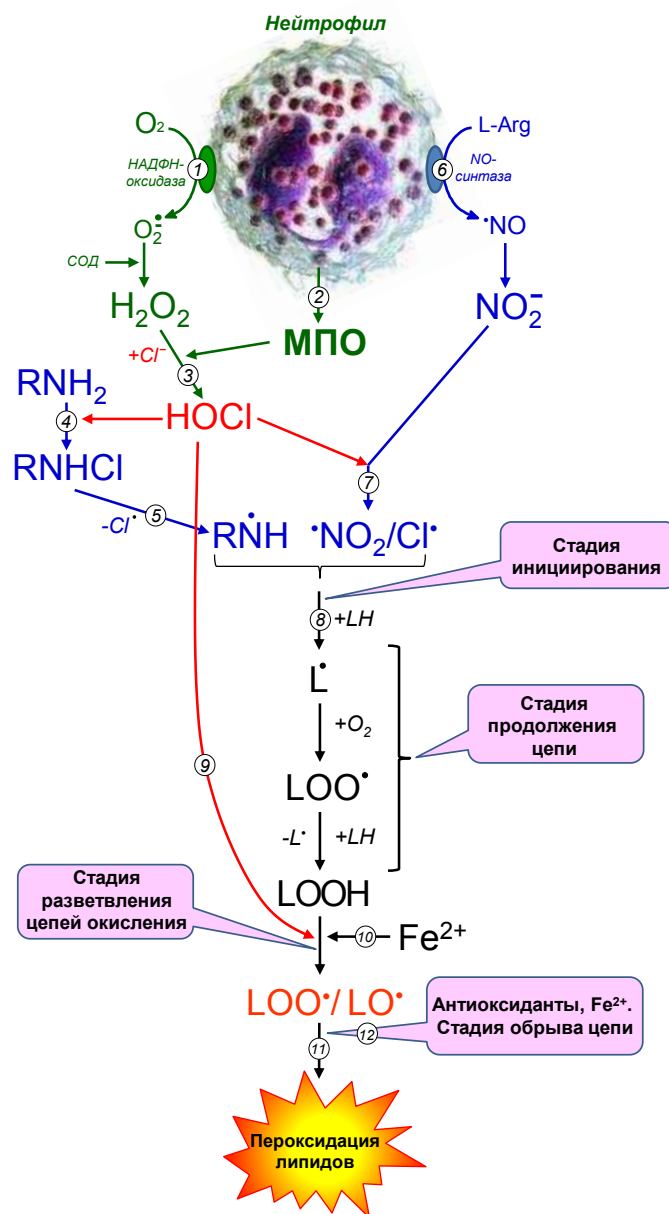


Рис. 5. Схема цепной разветвленной реакции пероксидации липидов, индуцированной активными формами галогенов (на примере HOCl), образующимися при активации нейтрофилов. Пояснения см. в тексте.

молекулярных продуктов под действием ионов металлов переменной валентности (стадия 12 на рис. 5).

В научной литературе часто дискутируются вопросы о том, что служит основной мишенью для АФГ в белок-липидных структурах, подобных биологическим мембранам и липопротеинам? Насколько значимую роль могут играть свободнорадикальные реакции ПОЛ в модификации физико-химических и функциональных свойств белок-липидных комплексов при галогенирующем стрессе? Если судить по количеству задействованных функциональных групп белка и липида и образующихся продуктов, а также по константам скоростей соответствующих реакций, то можно полагать, что основным является молекулярный механизм без образования свободных радикалов, поскольку концентрация образующихся хлор- и бромгидринов (по реакции (9)), хлор- и бромаминов (см. реакцию (29)) и других продуктов реакции АФГ с функциональными группами белка и липида значительно превышает концентрацию регистрируемых продуктов ПОЛ. Так методом масс-спектрометрии были получены результаты в пользу того, что при действии НОС1 (в том числе, образующейся при МПО-катализе) на фосфолипиды ЛНП основными продуктами являются хлоргидрины (см. реакцию (9)), а не гидропероксиды [12]. Тем не менее, ПОЛ представляет собой реальную альтернативу реакции (9) в том случае, если, во-первых, константа скорости реакции (9) не слишком высока, как это имеет место для НОС1 ( $8,7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  [99]), во-вторых, параллельно присутствуют дополнительные источники радикалов такие, как гидропероксиды или аминокгруппы, которые в реакции с АФГ дают свободные радикалы (см. реакции (23) и (29)). Известно, что продукты ПОЛ, образующиеся, как правило, в незначительных концентрациях, приводят к существенным изменениям физико-химических свойств липидной фазы ЛНП и других белок-липидных комплексов [8, 9, 11, 104]. Учитывая это, вряд ли следует пренебрегать возможностью инициирования свободнорадикальных реакций ПОЛ при воспалении, сопровождающимся галогенирующим стрессом.

Таким образом, галогенирующий стресс, обусловленный чрезмерным повышением концентрации/активности МПО и продукции АФГ в МПО-зависимых реакциях, характеризующийся модификацией белок-липидных структур, в том числе за счет активации ПОЛ, является причиной возникновения воспалительных заболеваний или, как минимум, сопровождает их развитие и усугубляет тяжесть. Становится очевидным, насколько важным и перспективным шагом в предупреждении этих заболеваний и борьбе с ними является разработка новых стратегий, направленных на регулирование активности



МПО и нейтрофилов в очаге воспаления, а также поиск чувствительных маркеров МПО и галогенирующего стресса, создание на их основе адекватных методов ранней диагностики и контроля за лечением.

### Благодарности

Авторы благодарят Юргена Арнхольда (Jürgen Arnhold, Institute of Medical Physics and Biophysics, Leipzig University, Germany), в соавторстве с которым была получена часть результатов, представленных в обзоре (см. ссылки [11, 38–43, 45–47, 57, 58, 61, 69–71, 86, 96, 97, 105, 110, 111, 113, 120, 230]).

### ЛИТЕРАТУРА

1. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. (1972) Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.: Наука, 252 с.
2. Koppenol, W.H. (1993) The centennial of the Fenton reaction, *Free Radical Biology and Medicine*, **15**, 645–651.
3. Сычев А.Я., Исак В.Г. (1995) Соединения железа и механизмы гомогенного катализа активации  $O_2$ ,  $H_2O_2$  и окисления органических субстратов, *Успехи химии*, **64**, 1183–1209.
4. Vladimirov, Yu.A., Roshchupkin, D.I., Fesenko, E.E. (1970) Photochemical reactions in amino acid residues and inactivation of enzymes during U.F.-irradiation. A review, *Photochemistry and Photobiology*, **11**, 227–246.
5. Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К., Бондарь И.А., Круговых Н.Ф., Труфакин В.А. (2006) Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты. М.: Фирма «Слово», 556 с.
6. Arnhold J. (2019) Cell and tissue destruction. Mechanisms, Protection, Disorders. London: Academic Press. 342 p.
7. Панасенко О.М., Сергиенко В.И. (2010) Галогенирующий стресс и его биомаркеры, *Вестник Российской академии медицинских наук*, **65**, №1, 27–39.
8. 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.
9. Панасенко О.М., Торховская Т.И., Горудко И.В., Соколов А.В. (2020) Роль галогенирующего стресса в атерогенной модификации липопротеинов низкой плотности, *Успехи биологической химии*, **60**, 75–122.
10. Panasenko, O.M. (1997) The mechanism of the hypochlorite-induced lipid peroxidation, *BioFactors*, **6**, 181–190.
11. Панасенко О.М., Арнхольд Ю., Сергиенко В.И. (2002) Повреждение липидов мембран гипохлоритом, *Биологические мембраны*, **19**, 403–434.

**КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ:** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

12. Spickett, C.M., Jerlich, A., Panasenکو, O.M., Arnhold, J., Pitt, A.R., Stelmaszynska, T., Schaur, R.J. (2000) The reaction of hypochlorous acid, the reactive oxygen species produced by myeloperoxidase, with lipids, *Acta Biochimica Polonica*, **47**, 889–899.
13. Панасенко О.М., Сергиенко В.И. (2001) Гипохлорит, окислительная модификация липопротеинов крови и атеросклероз, *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*, **131**, 484–494.
14. Malle, E., Marsche, G., Arnhold, J., Davies, M.J. (2006) Modification of low-density lipoprotein by myeloperoxidase-derived oxidants and reagent hypochlorous acid, *Biochimica et Biophysica Acta*, **1761**, 392–415.
15. Davies, M.J., Hawkins, C.L., Pattison, D.I., Rees, M.D. (2008) Mammalian heme peroxidases: from molecular mechanisms to health implications, *Antioxidants & Redox Signaling*, **10**, 1199–1234.
16. Ruf, J., Carayon, P. (2006) Structural and functional aspects of thyroid peroxidase, *Archives Biochemistry and Biophysics*, **445**, 269–277.
17. Kussendrager, K.D., van Hooijdonk, A.C. (2000) Lactoperoxidase: physico-chemical properties, occurrence, mechanism of action and applications, *British Journal of Nutrition*, **84**, Suppl 1, S19–S25.
18. Carlson, M.G., Peterson, C.G., Venge, P. (1985) Human eosinophil peroxidase: purification and characterization, *Journal of Immunology*, **134**, 1875–1879.
19. Giembycz, M.A., Lindsay, M.A. (1999) Pharmacology of the eosinophil, *Pharmacological Reviews*, **51**, 213–340.
20. Edwards, S.W. (1994) Biochemistry and physiology of the neutrophil. Cambridge-New York-Melbourn: Cambridge University Press. 299 p.
21. Schultz, J., Kaminker, K. (1962) Myeloperoxidase of the leucocyte of normal human blood. I. Content and localization, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **96**, 465–467.
22. Deby-Dupont, G., Deby, C., Lamy, M. (1999) Neutrophil myeloperoxidase revisited: it's role in health and disease, *Intensivmedizin und Notfallmedizin*, **36**, 500–513.
23. Halliwell B., Gutteridge J.M.C. (2015) Free radical in biology and medicine. Oxford: Oxford University Press. 905 p.
24. Земсков В.М. (1984) Фагоцитоз: физиологические и молекулярные аспекты, *Успехи современной биологии*, **98**, 219–233.
25. Smith, R.J., Speziale, S.C., Bowman, B.J. (1985) Properties of interleukin-1 as a complete secretogen for human neutrophils, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **130**, 1233–1240.
26. Abu-Ghazaleh, R.I., Dunnette, S.L., Loegering, D.A., Checkel, J.L., Kita, H., Thomas, L.L., Gleich, G.J. (1992) Eosinophil granule proteins in peripheral blood granulocytes, *Journal of Leukocyte Biology*, **52**, 611–618.
27. Arnhold, J., Monzani, E., Furtmüller, P.G., Zaderbauer, M., Casella, L., Obinger, C. (2006) Kinetics and thermodynamics of halide and nitrite oxidation by mammalian heme peroxidases, *European Journal of Inorganic Chemistry*, **19**, 3801–3811.
28. Thomas, E.L., Bozeman, P.M., Jefferson, M.M., King, C.C. (1995) Oxidation of bromide by the human leukocyte enzymes myeloperoxidase and eosinophil peroxidase. Formation of bromamines, *Journal of Biological Chemistry*, **270**, 2906–2913.
29. Furtmüller, P.G., Burner, U., Obinger, C. (1998) Reaction of myeloperoxidase Compound I with chloride,

- bromide, iodide, and thiocyanate, *Biochemistry*, **37**, 17923–17930.
30. Furtmüller, P.G., Burner, U., Regelsberger, G., Obinger, C. (2000) Spectral and kinetic studies on the formation of eosinophil peroxidase compound I and its reaction with halides and thiocyanate, *Biochemistry*, **39**, 15578–15584.
31. Bafort, F., Parisi, O., Perraudin, J.-P., Jijakli, M.H. (2014) Mode of action of lactoperoxidase as related to its antimicrobial activity: a review, *Enzyme Research*, **2014**, 517164.
32. Furtmüller, P.G., Jantschko, W., Regelsberger, G., Jakopitsch, C., Arnhold, J., Obinger, C. (2002) Reaction of lactoperoxidase compound I with halides and thiocyanate, *Biochemistry*, **41**, 11895–11900.
33. 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.
34. Гриффит О., Джост П. (1979) Липидные спиновые метки в биологических мембранах. В кн.: *Метод спиновых меток. Теория и применение*. М.: Мир. 489–569.
35. Панасенко О.М., Евгина С.А., Сергиенко В.И. (1993) Изучение способности гипохлорита проникать в липидную фазу липопротеинов крови человека, *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*, **115**, 358–360.
36. Weiss, S.J., LoBuglio, A.F. (1982) Biology of disease. Phagocyte-generated oxygen metabolites and cellular injury, *Laboratory Investigation*, **47**, 5–18.
37. Schraufstatter, I.U., Browne, K., Harris, A., Hyslop, P.A., Jackson, J.H., Quehenberger, O., Cochrane, C.G. (1990) Mechanisms of hypochlorite injury of target cells. *Journal of Clinical Investigation*, **85**, 554–562.
38. Panasenko, O.M., Arnhold, J., Schiller, J., Arnold, K., Sergienko, V.I. (1994) Peroxidation of egg yolk phosphatidylcholine liposomes by hypochlorous acid, *Biochimica et Biophysica Acta*, **1215**, 259–266.
39. Панасенко О.М., Арнхольд Ю., Владимиров Ю.А., Арнольд К., Сергиенко В.И. (1995) Применение метода хемилюминесценции в исследовании кинетики взаимодействия гипохлорита с фосфатидилхолиновыми липосомами, *Биофизика*, **40**, 1234–1242.
40. Arnhold, J., Panasenko, O.M., Schiller, J., Vladimirov, Yu.A., Arnold, K. (1995) The action of hypochlorous acid on phosphatidylcholine liposomes in dependence on the content of double bonds. Stoichiometry and NMR analysis, *Chemistry and Physics of Lipids*, **78**, 55–64.
41. Панасенко О.М., Арнхольд Ю., Сергиенко В.И., Арнольд К., Владимиров Ю.А. (1996) Стехиометрия взаимодействия гипохлорита с ненасыщенными связями фосфатидилхолина и свободных жирных кислот в составе липосом, *Биологические мембраны*, **13**, 271–281.
42. Панасенко О.М., Арнхольд Ю. (1996) Механизм гипохлорит-индуцированного перекисного окисления липидов фосфолипидных липосом, *Биологические мембраны*, **13**, 89–99.
43. Arnhold, J., Osipov, A.N., Spalteholz, H., Panasenko, O.M., Schiller, J. (2001) Effects of hypochlorous acid on unsaturated phosphatidylcholines, *Free Radical Biology and Medicine*, **31**, 1111–1119.
44. Jerlich, A., Fabjan, J.S., Tschabuschnig, S., Smirnova, A.V., Horakova, L., Hayn, M., Auer, H., Guttenberger, H., Leis, H.J., Tatzber,

- F., Waeg, G., Schaur, R.J. (1998) Human low density lipoprotein as a target of hypochlorite generated by myeloperoxidase, *Free Radical Biology and Medicine*, **24**, 1139–1148.
45. Spalteholz, H., Wenske, K., Panasenکو, O.M., Schiller, J., Arnhold, J. (2004) Evaluation of products upon the reaction of hypochlorous acid with unsaturated phosphatidylcholines, *Chemistry and Physics of Lipids*, **129**, 85–96.
46. Панасенко О.М., Осипов А.Н., Шиллер Ю., Арнхольд Ю. (2002) Взаимодействие экзогенного гипохлорита и гипохлорита, продуцируемого в системе МПО+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>+Cl<sup>-</sup> с ненасыщенным фосфатидилхолином, *Биохимия*, **67**, 1071–1084.
47. Panasenکو, O.M., Vakhrusheva, T., Tretyakov, V., Spalteholz, H., Arnhold, J. (2007) Influence of chloride on modification of unsaturated phosphatidylcholines by the myeloperoxidase/hydrogen peroxide/bromide system, *Chemistry and Physics of Lipids*, **149**, 40–51.
48. Skaff, O., Pattison, D.I., Davies, M.J. (2007) Kinetics of hypobromous acid-mediated oxidation of lipid components and antioxidants, *Chemical Research in Toxicology*, **20**, 1980–1988.
49. Winterbourn, C.C., van den Berg, J.J., Roitman, E., Kuypers, F.A. (1992) Chlorohydrin formation from unsaturated fatty acids reacted with hypochlorous acid, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **296**, 547–555.
50. Carr, A.C., Winterbourn, C.C., van den Berg, J.J. (1996) Peroxidase-mediated bromination of unsaturated fatty acids to form bromohydrins, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **327**, 227–233.
51. Евгина С.А., Панасенко О.М., Сергиенко В.И., Владимиров Ю.А. (1992) Перекисное окисление липопротеинов крови человека, индуцированное гипохлорит-анионом, *Биологические мембраны*, **9**, 946–953.
52. Stelmaszynska, T., Kukovetz, E., Egger, G., Schaur, R.J. (1992) Possible involvement of myeloperoxidase in lipid peroxidation, *International Journal of Biochemistry*, **24**, 121–128.
53. Noguchi, N., Nakada, A., Itoh, Y., Watanabe, A., Niki, E. (2002) Formation of active oxygen species and lipid peroxidation induced by hypochlorite arch, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **397**, 440–447.
54. Kawai, Y., Kiyokawa, H., Kimura, Y., Kato, Y., Tsuchiya, K., Terao, J. (2006) Hypochlorous acid-derived modification of phospholipids: characterization of aminophospholipids as regulatory molecules for lipid peroxidation, *Biochemistry*, **45**, 14201–14211.
55. Hazell L.J., Davies M.J., Stocker R. (1999) Secondary radicals derived from chloramines of apolipoprotein B-100 contribute to HOCl-induced lipid peroxidation of low-density lipoproteins, *Biochemical Journal*, **339**, 489–495.
56. Hazell L.J., van den Berg J.J., Stocker R. (1994) Oxidation of low-density lipoprotein by hypochlorite causes aggregation that is mediated by modification of lysine residues rather than lipid oxidation, *Biochemical Journal*, **302**, 297–304.
57. Panasenکو, O.M., Arnhold, J., Vladimirov, Yu.A., Arnold, K., Sergienko, V.I. (1997) Hypochlorite-induced peroxidation of egg yolk phosphatidylcholine is mediated by hydroperoxides, *Free Radical Research*, **27**, 1–12.
58. Панасенко О.М., Арнхольд Ю., Арнольд К., Владимиров Ю.А., Сергиенко В.И. (1996) Сравни-

- тельное исследование кинетики пероксидации фосфолипидных липосом, индуцированной гипохлоритом и в системе Fe (II) + аскорбат, *Биофизика*, **41**, 334–341.
59. Panasenko, O.M., Evgina, S.A., Aidyaliev, R.K., Sergienko, V.I., Vladimirov, Yu.A. (1994) Peroxidation of human blood lipoproteins induced by exogenous hypochlorite or hypochlorite generated in the system of «myeloperoxidase + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + Cl<sup>-</sup>», *Free Radical Biology and Medicine*, **16**, 143–148.
60. Panasenko, O.M., Evgina, S.A., Driomina, E.S., Sharov, V.S., Sergienko, V.I., Vladimirov, Yu.A. (1995) Hypochlorite induces lipid peroxidation in blood lipoproteins and phospholipid liposomes, *Free Radical Biology and Medicine*, **19**, 133–140.
61. Panasenko, O.M., Arnhold, J. (1999) Linoleic acid hydroperoxide favours hypochlorite- and myeloperoxidase-induced lipid peroxidation, *Free Radical Research*, **30**, 479–487.
62. Горбатенкова Е.А., Артман Г.М., Панасенко О.М. (1999) Гипохлорит и липопротеины низкой плотности, модифицированные гипохлоритом, стимулируют адгезию эритроцитов к эндотелию, *Биологические мембраны*, **16**, 437–444.
63. van der Vliet, A., Hu, M.L., O'Neill, C.A., Cross, C.E., Halliwell, B. (1994) Interactions of human blood plasma with hydrogen peroxide and hypochlorous acid, *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, **124**, 701–707.
64. Boon, A.C., Hawkins, C.L., Coombes, J.S., Wagner, K.H., Bulmer, F.C. (2015) Bilirubin scavenges chloramines and inhibits myeloperoxidase-induced protein/lipid oxidation in physiologically relevant hyperbilirubinemic serum, *Free Radical Biology and Medicine*, **86**, 259–268.
65. Whiteman, M., Rose, P., Siau, J.L., Halliwell, B. (2003) Nitrite-mediated protection against hypochlorous acid-induced chondrocyte toxicity: a novel cytoprotective role of nitric oxide in the inflamed joint? *Arthritis & Rheumatology*, **48**, 3140–3150.
66. Whiteman, M., Cheung, N.S., Zhu, Y-Z., Chu, S.H., Siau, J.L., Wong, B.S., Armstrong, J.S., Moore, P.K. (2005) Hydrogen sulphide: a novel inhibitor of hypochlorous acid-mediated oxidative damage in the brain? *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **326**, 794–798.
67. Gungör, N., Knaapen, A.M., Munnia, A., Peluso, M., Haenen, G.R., Chiu, R.K., Godschalk, R.W.L., van Schooten, F.J. (2010) Genotoxic effects of neutrophils and hypochlorous acid, *Mutagenesis*, **25**, 149–154.
68. Exnel, M., Hermann, M., Hofbauer, R., Hartmann, B., Kapiotis, S., Gmeiner, B. (2004) Thiocyanate catalyzes myeloperoxidase-initiated lipid peroxidation in LDL, *Free Radical Biology and Medicine*, **37**, 146–155.
69. Панасенко О.М., Арнхольд Ю., Сергиенко В.И. (1998) Влияние pH на перекисное окисление фосфолипидных липосом, индуцированное гипохлоритом, *Биофизика*, **43**, 463–469.
70. Spalteholz, H., Panasenko, O.M., Arnhold, J. (2006) Formation of reactive halide species by myeloperoxidase and eosinophil peroxidase, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **445**, 225–234.
71. Panasenko, O.M., Spalteholz, H., Schiller, J., Arnhold, J. (2003) Myeloperoxidase-induced formation of chlorohydrins and lysophospholipids from unsaturated phosphatidylcholines, *Free Radical Biology and Medicine*, **34**, 553–562.

72. Panasenko, O.M., Briviba, K., Klotz, L.-O., Sies, H. (1997) Oxidative modification and nitration of human low-density lipoproteins by the reaction of hypochlorous acid with nitrite, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **343**, 254–259.
73. Arnhold, J., Mueller, S., Arnold, K., Grimm, E. (1991) Chemiluminescence intensities and spectra of luminol oxidation by sodium hypochlorite in the presence of hydrogen peroxide, *Journal of Bioluminescence and Chemiluminescence*, **6**, 189–192.
74. Каган В.Е., Орлов О.Н., Прилипко Л.Л. (1986) Проблема анализа эндогенных продуктов перекисного окисления липидов, *Итоги науки и техники ВИНТИ, Биофизика*, **18**, 5–135.
75. Arnhold, J., Mueller, S., Arnold, K., Sonntag, K. (1993) Mechanisms of inhibition of chemiluminescence in the oxidation of luminol by sodium hypochlorite, *Journal of Bioluminescence and Chemiluminescence*, **8**, 307–313.
76. Long, C.A., Bielski, B.H.J. (1980) Rate of reaction of superoxide radical with chloride-containing species, *Journal of Physical Chemistry*, **84**, 555–557.
77. Candeias, L.P., Stratford, M.R., Wardman, P. (1994) Formation of hydroxyl radicals on reaction of hypochlorous acid with ferrocyanide, a model iron(II) complex, *Free Radical Research*, **20**, 241–249.
78. Якутова Э.Ш., Дремина Е.С., Евгина С.А., Осипов А.Н., Шаров В.С., Панасенко О.М., Владимиров Ю.А. (1994) Образование свободных радикалов при взаимодействии гипохлорита с ионами железа (II), *Биофизика*, **39**, 275–279.
79. Панасенко О.М., Евгина С.А., Дремина Е.С., Шаров В.С., Сергиенко В.И., Владимиров Ю.А. (1995) Роль  $Fe^{2+}$  в перекисном окислении липидов липосомальных мембран, инициированном гипохлоритом натрия, *Биологические мембраны*, **12**, 191–199.
80. Driomina, E.S., Polnikov, I.G., Sharov, V.S., Azizova, O.A., Vladimirov, Yu.A. (1994) The chemiluminescence assay of lipid peroxidation products in human blood plasma lipoproteins, *Free Radical Research*, **20**, 279–288.
81. Driomina, E.S., Sharov, V.S., Vladimirov, Yu.A. (1993)  $Fe^{2+}$ -induced lipid peroxidation in liposomes. The role of surface  $Fe^{2+}$  concentration in switching of the reaction from acceleration to decay, *Free Radical Biology and Medicine*, **15**, 239–247.
82. Осипов А.Н., Брюханова Э.В., Вахрушева Т.В., Панасенко О.М., Владимиров Ю.А. (1997) Влияние гипохлорита и перекиси водорода на способность гемоглобина стимулировать перекисное окисление липидов липопротеинов низкой плотности, *Биофизика*, **42**, 400–407.
83. Якутова Э.Ш., Осипов А.Н., Костенко О.В., Арнхольд Ю., Арнольд К., Владимиров Ю.А. (1992) Взаимодействие гипохлорита с оксигемоглобином приводит к освобождению железа в каталитически активной форме, *Биофизика*, **37**, 1021–1028.
84. Ахметов Н.С. (1975) Неорганическая химия. М.: Высшая школа. 304–311.
85. Adam, L.C., Gordon, G. (1999) Hypochlorite ion decomposition: effects of temperature, ionic strength, and chloride ion, *Inorganic Chemistry*, **38**, 1299–1304.
86. Панасенко О.М., Арнхольд Ю., Сергиенко В.И. (1997) Влияние хлорита, хлората и перхлората натрия на гипохлорит-индуцированное перекисное окисление фосфолипидных липосом, *Биологические мембраны*, **14**, 207–211.

87. Marletta, M.A., Yoon, P.S., Iyenger, R., Leaf, C.D., Wishok, J.S. (1988) Macrophage oxidation of L-arginine to nitrite and nitrate: nitric oxide is an intermediate, *Biochemistry*, **27**, 8706–8711.
88. Johnson, D.W., Margerum, D.W. (1991) Non-metal redox kinetics: a reexamination of the mechanism of the reaction between hypochlorite and nitrite ions, *Inorganic Chemistry*, **30**, 4845–4851.
89. Eiserich, J.P., Cross, C.E., Jones, A.D., Halliwell, B., Van der Vliet, A. (1996) Formation of nitrating and chlorinating species by reaction of nitrite with hypochlorous acid. A novel mechanism for nitric oxide-mediated protein modification, *Journal of Biological Chemistry*, **271**, 19199–19208.
90. Byun, J., Mueller, M., Fabjan, J.S., Heinecke, J.W. (1999) Nitrogen dioxide radical generated by the myeloperoxidase-hydrogen peroxide-nitrite system promotes lipid peroxidation of low density lipoproteins, *FEBS Letters*, **455**, 243–246.
91. Savenkova, M.L., Mueller, D.M., Heinecke, J.W. (1994) Tyrosyl radical generated by myeloperoxidase is a physiological catalyst for the initiation of lipid peroxidation in low density lipoprotein, *Journal of Biological Chemistry*, **269**, 20394–20400.
92. Heinecke, J.W. (2002) Tyrosyl radical production by myeloperoxidase: a phagocyte pathway for lipid peroxidation and dityrosine cross-linking of proteins, *Toxicology*, **177**, 11–22.
93. Davies, M.J., Hawkins, C.L. (2000) Hypochlorite-induced oxidation of thiols: formation of thiyl radicals and the role of sulfenyl chlorides as intermediates, *Free Radical Research*, **33**, 719–729.
94. Schöneich, C., Dillinger, U., von Bruchhausen, F., Asmus, K.D. (1992) Oxidation of polyunsaturated fatty acids and lipids through thiyl and sulfonyl radicals: reaction kinetics, and influence of oxygen and structure of thiyl radicals, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **292**, 456–467.
95. Moosmann, B., Hajieva, P. (2022) Probing the role of cysteine thiyl radicals in biology: eminently dangerous, difficult to scavenge, *Antioxidants*, **11**, 885.
96. Панасенко О.М., Шпальтеholz Г., Шиллер Ю., Арнхольд Ю. (2006) Опосредованное лейкоцитарной миелопероксидазой образование бромгидринов и лизофосфолипидов из ненасыщенных фосфатидилхолинов, *Биохимия*, **71**, 707–718.
97. Arnhold, J., Osipov, A.N., Spalteholz, H., Panasenko, O.M., Schiller, J. (2002) Formation of lysophospholipids from unsaturated phosphatidylcholines under the influence of hypochlorous acid, *Biochimica et Biophysica Acta*, **1572**, 91–100.
98. Carr, A.C., van den Berg, J.J., Winterbourn, C.C. (1998) Differential reactivities of hypochlorous and hypobromous acids with purified *Escherichia coli* phospholipid: formation of haloamines and haloaldehydes, *Biochimica et Biophysica Acta*, **1392**, 254–264.
99. Pattison D.I., Hawkins C.L., Davies M.J. (2003) Hypochlorous acid-mediated oxidation of lipid components and antioxidants present in low-density lipoproteins: absolute rate constants, product analysis, and computational modeling, *Chemical Research in Toxicology*, **16**, 439–449.
100. 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.

101. Pattison, D.I., Davies, M.J. (2004) Kinetic analysis of the reactions of hypobromous acid with protein components: implications for cellular damage and use of 3-bromotyrosine as a marker of oxidative stress, *Biochemistry*, **43**, 4799–4809.
102. Hawkins, C.L., Davies, M.J. (1998) Hypochlorite-induced damage to proteins: formation of nitrogen-centred radicals from lysine residues and their role in protein fragmentation, *Biochemical Journal*, **322**, 617–625.
103. Hawkins, C.L., Davies, M.J. (1998) Reaction of HOCl with amino acids and peptides: EPR evidence for rapid rearrangement and fragmentation reactions of nitrogen-centred radicals, *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*, No 9, 1937–1945.
104. Rice-Evans, C., Leake, D., Bruckdorfer, K.R., Diplock, A.T. (1996) Practical approaches to low density lipoprotein oxidation: whys, wherefores and pitfalls, *Free Radical Research*, **25**, 285–311.
105. Панасенко О.М., Арнхольд Ю., Владимиров Ю.А., Сергиенко В.И. (1995) Взаимодействие гипохлорита с гидропероксидами и другими продуктами окисления фосфатидилхолиновых липосом, *Биохимия*, **60**, 1419–1428.
106. Winterbourn, C.C., Carr, A.C. (1993) Myeloperoxidase-dependent loss of malondialdehyde: a limitation for detecting neutrophil-mediated lipid peroxidation, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **302**, 461–467.
107. Kanofsky, J.R. (1989) Singlet oxygen production by biological systems, *Chemico-Biological Interactions*, **70**, 1–28.
108. Girotti, A.W. (1998) Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems, *Journal of Lipid Research*, **39**, 1529–1542.
109. Thomas, M.J., Pryor, W.A. (1980) Singlet oxygen oxidation of methyl linoleate: isolation and characterization of the NaBH<sub>4</sub>-reduced products, *Lipids*, **15**, 544–548.
110. Панасенко О.М., Арнхольд Ю., Шиллер Ю. (1997) Гипохлорит взаимодействует с органическим гидропероксидом с образованием свободных радикалов, но не синглетного кислорода, инициируя перекисное окисление липидов, *Биохимия*, **62**, 1111–1121.
111. Arnhold, J., Panasencko, O.M., Schiller, J., Arnold, K., Vladimirov, Yu.A., Sergienko, V.I. (1996) Reaction of hypochlorous acid with hydrogen peroxide and *tert*-butyl hydroperoxide. <sup>1</sup>H-NMR Spectroscopy and chemiluminescence analyses, *Zeitschrift für Naturforschung*, **51C**, 386–394.
112. Чеканов А.В., Осипов А.Н., Владимиров Ю.А., Сергиенко В.И., Панасенко О.М. (2007) Сравнительное исследование взаимодействия бромноватистой и хлорноватистой кислот с *трет*-бутилгидропероксидом методом спиновых ловушек, *Биофизика*, **52**, 5–13.
113. Чеканов А.В., Панасенко О.М., Осипов А.Н., Арнхольд Ю., Казаринов К.Д., Владимиров Ю.А., Сергиенко В.И. (2002) Взаимодействие *трет*-бутилгидропероксида с гипохлоритом приводит к образованию перекисных радикалов. Исследование методом хемиллюминесценции, *Биофизика*, **47**, 787–794.
114. Осипов А.Н., Моравский А.П., Шувалов В.Ф., Азизова О.А., Владимиров Ю.А. (1980) Изучение кинетики гибели перекисных радикалов в липидах, *Биофизика*, **25**, 234–238.



115. Осипов А.Н., Савов В.М., Яхъяев А.В., Зубарев В.Е., Азизова О.А., Каган В.Е., Владимиров Ю.А. (1984) Исследование радикалов, образующихся при взаимодействии органических гидропероксидов с ионами железа, методом спиновых ловушек, *Биофизика*, **29**, 533–536.
116. Чеканов А.В., Панасенко О.М., Осипов А.Н., Матвеева Н.С., Казаринов К.Д., Владимиров Ю.А., Сергиенко В.И. (2005) Взаимодействие гипохлорита с гидропероксидом жирной кислоты приводит к образованию свободных радикалов, *Биофизика*, **50**, 13–19.
117. Sharov, V.S., Briviba, K., Sies, H. (1996) Assessment of the C-525 laser dye as a chemiluminescence sensitizer for lipid peroxidation in biological membranes: a comparison with chlorophyll-a, *Free Radical Biology and Medicine*, **21**, 833–843.
118. Шаров В.С., Дремина Е.С., Владимиров Ю.А. (1995) Сенсibilизация  $Fe^{2+}$ -индуцированной хемилюминесценции в липопротеинах низкой плотности плазмы крови человека флуоресцентным красителем C-525, *Биофизика*, **40**, 428–432.
119. Чеканов А.В., Осипов А.Н., Владимиров Ю.А., Сергиенко В.И., Панасенко О.М. (2006) Взаимодействие гипобромита с трет-бутилгидропероксидом. Роль в пероксидации фосфолипидных липосом, *Биологические мембраны*, **23**, 426–432.
120. Панасенко О.М., Чеканов А.В., Арнхольд Ю., Сергиенко В.И., Осипов А.Н., Владимиров Ю.А. (2005) Образование свободных радикалов при распаде гидропероксида в присутствии миелопероксидазы или активированных нейтрофилов, *Биохимия*, **70**, 1209–1217.
121. Merkel, P.B., Nilsson, R., Kearns, D.R. (1972) Deuterium effects on singlet oxygen lifetimes in solutions. A new test of singlet oxygen reactions, *Journal of the American Chemical Society*, **94**, 1030–1031.
122. Pryor, W.A. (1986) Oxy-radicals and related species: Their formation, lifetimes, and reactions, *Annual Review of Physiology*, **48**, 657–667.
123. Tsikas, D. (2007) Analysis of nitrite and nitrate in biological fluids by assays based on the Griess reaction: Appraisal of the Griess reaction in the L-arginine/nitric oxide area of research, *Journal of Chromatography B*, **851**, 51–70.
124. Grau, M., Hendgen-Cotta, U.B., Brouzos, P., Drexhage, C., Rassaf, T., Lauer, T., Dejam, A., Kelm, M., Kleinbongard, P. (2007) Recent methodological advances in the analysis of nitrite in the human circulation: nitrite as a biochemical parameter of the L-arginine/NO pathway, *Journal of Chromatography B*, **851**, 106–123.
125. Kalyanaraman, B. (1995) Thiyl radicals in biological systems: significant or trivial? *Biochemical Society Symposia*, **61**, 55–63.
126. Hawkins, C.L., Davies, M.J. (1999) Hypochlorite-induced oxidation of proteins in plasma: formation of chloramines and nitrogen-centred radicals and their role in protein fragmentation, *Biochemical Journal*, **340**, 539–548.
127. Tweeddale, H.J., Kondo, M., Gebicki, J.M. (2007) Proteins protect lipid membranes from oxidation by thiyl radicals, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **459**, 151–158.
128. Klebanoff, S.J. (2005) Myeloperoxidase: friend and foe, *Journal of Leukocyte Biology*, **77**, 598–625.
129. Arnhold, J. (2020) The dual role of myeloperoxidase in immune res-

- ponse, *International Journal of Molecular Sciences*, **21**, 8057.
130. Daugherty, A., Dunn, J.L., Rateri, D.L., Heinecke, J.W. (1994) Myeloperoxidase, a catalyst for lipoprotein oxidation, is expressed in human atherosclerotic lesions, *Journal of Clinical Investigation*, **94**, 437–444.
  131. Sugiyama, S., Okada, Y., Sukhova, G.K., Virmani, R., Heinecke, J.W., Libby, P. (2001) Macrophage myeloperoxidase regulation by granulocyte macrophage colony-stimulating factor in human atherosclerosis and implications in acute coronary syndromes, *American Journal of Pathology*, **158**, 879–891.
  132. Malle, E., Waeg, G., Schreiber, R., Gröne, E.F., Sattler, W., Gröne, H.J. (2000) Immunohistochemical evidence for the myeloperoxidase/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/halide system in human atherosclerotic lesions: colocalization of myeloperoxidase and hypochlorite-modified proteins, *European Journal of Biochemistry*, **267**, 4495–4503.
  133. Zhang, R., Brennan, M.L., Fu, X., Aviles, R.J., Pearce, G.L., Penn, M.S., Topol, E.J., Sprecher, D.L., Hazen, S.L. (2001) Association between myeloperoxidase levels and risk of coronary artery disease, *Journal of the American Medical Association*, **286**, 2136–2142.
  134. Roman, R.M., Camargo, P.V., Borges, F.K., Rossini, A.P., Polanczyk, C.A. (2010) Prognostic value of myeloperoxidase in coronary artery disease: comparison of unstable and stable angina patients, *Coronary Artery Disease*, **21**, 129–136.
  135. Wainstein, R.V., Wainstein, M.V., Ribeiro, J.P., Dornelles, L.V., Tozzati, P., Ashton-Prolla, P., Ewald, I.P., Vietta, G., Polanczyk, C.A. (2010) Association between myeloperoxidase polymorphisms and its plasma levels with severity of coronary artery disease, *Clinical Biochemistry*, **43**, 57–62.
  136. Tang, W.H., Wu, Y., Nicholls, S.J., Hazen, S.L. (2011) Plasma myeloperoxidase predicts incident cardiovascular risks in stable patients undergoing medical management for coronary artery disease, *Clinical Chemistry*, **57**, 33–39.
  137. Karakas, M., Koenig, W., Zierer, A., Herder, C., Rottbauer, W., Baumert, J., Meisinger, C., Thorand, B. (2012) Myeloperoxidase is associated with incident coronary heart disease independently of traditional risk factors: results from the MONICA/KORA Augsburg study, *Journal of Internal Medicine*, **271**, 43–50.
  138. Chen, L.Q., Rohatgi, A., Ayers, C.R., Das, S.R., Khera, A., Berry, J.D., McGuire, D.K., de Lemos, J.A. (2011) Race-specific associations of myeloperoxidase with atherosclerosis in a population-based sample: the Dallas Heart Study, *Atherosclerosis*, **219**, 833–838.
  139. Sokolov, A.V., Ageeva, K.V., Cherkalina, O.S., Pulina, M.O., Zakharova, E.T., Prozorovskii, V.N., Akse- nov, D.V., Vasilyev, V.B., Panasenko, O.M. (2010) Identification and properties of complexes formed by myeloperoxidase with lipoproteins and ceruloplasmin, *Chemistry and Physics of Lipids*, **163**, 347–355.
  140. Hazell, L.J., Arnold, L., Flowers, D., Waeg, G., Malle, E., Stocker, R. (1996) Presence of hypochlorite-modified proteins in human atherosclerotic lesions, *Journal of Clinical Investigation*, **97**, 1535–1544.
  141. Hazell, L.J., Baerenthaler, G., Stocker, R. (2001) Correlation between intima-to-media ratio, apolipoprotein B-100, myeloperoxidase, and hypochlorite-oxidized proteins in human atherosclerosis, *Free Radical Biology and Medicine*, **31**, 1254–1262.

142. Hazen, S.L., Heinecke, J.W. (1997) 3-Chlorotyrosine, a specific marker of myeloperoxidase-catalyzed oxidation, is markedly elevated in low density lipoprotein isolated from human atherosclerotic intima, *Journal of Clinical Investigation*, **99**, 2075–2081.
143. Hazen, S.L., Crowley, J.R., Mueller, D.M., Heinecke, J.W. (1997) Mass spectrometric quantification of 3-chlorotyrosine in human tissues with attomole sensitivity: a sensitive and specific marker for myeloperoxidase-catalyzed chlorination at sites of inflammation, *Free Radical Biology and Medicine*, **23**, 909–916.
144. Pennathur, S., Bergt, C., Shao, B., Byun, J., Kassim, S.Y., Singh, P., Green, P.S., McDonald, T.O., Brunzell, J., Chait, A., Oram, J.F., O'Brien, K., Geary, R.L., Heinecke, J.W. (2004) Human atherosclerotic intima and blood of patients with established coronary artery disease contain high density lipoprotein damaged by reactive nitrogen species, *Journal of Biological Chemistry*, **279**, 42977–42983.
145. Shao, B., Pennathur, S., Heinecke, J.W. (2012) Myeloperoxidase targets apolipoprotein A-I, the major high density lipoprotein protein, for site-specific oxidation in human atherosclerotic lesions, *Journal of Biological Chemistry*, **287**, 6375–6386.
146. Zheng, L., Nukuna, B., Brennan, M.L., Sun, M., Goormastic, M., Settle, M., Schmitt, D., Fu, X., Thomson, L., Fox, P.L., Ischiropoulos, H., Smith, J.D., Kinter, M., Hazen, S.L. (2004) Apolipoprotein A-I is a selective target for myeloperoxidase-catalyzed oxidation and functional impairment in subjects with cardiovascular disease, *Journal of Clinical Investigation*, **114**, 529–541.
147. Bergt, C., Pennathur, S., Fu, X., Byun, J., O'Brien, K., McDonald, T.O., Singh, P., Anantharamaiah, G.M., Chait, A., Brunzell, J., Geary, R.L., Oram, J.F., Heinecke, J.W. (2004) The myeloperoxidase product hypochlorous acid oxidizes HDL in the human artery wall and impairs ABCA1-dependent cholesterol transport, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **101**, 13032–13037.
148. Thukkani, A.K., McHowat, J., Hsu, F.F., Brennan, M.L., Hazen, S.L., Ford, D.A. (2003) Identification of alpha-chloro fatty aldehydes and unsaturated lysophosphatidylcholine molecular species in human atherosclerotic lesions, *Circulation*, **108**, 3128–3133.
149. Messner, M.C., Albert, C.J., McHowat, J., Ford, D.A. (2008) Identification of lysophosphatidylcholine-chlorohydrin in human atherosclerotic lesions, *Lipids*, **43**, 243–249.
150. Takeshita, J., Byun, J., Nhan, T.Q., Pritchard, D.K., Pennathur, S., Schwartz, S.M., Chait, A., Heinecke, J.W. (2006) Myeloperoxidase generates 5-chlorouracil in human atherosclerotic tissue: a potential pathway for somatic mutagenesis by macrophages, *Journal of Biological Chemistry*, **281**, 3096–3104.
151. Cheng, M.L., Chen, C.M., Gu, P.W., Ho, H.Y., Chiu, D.T. (2008) Elevated levels of myeloperoxidase, white blood cell count and 3-chlorotyrosine in Taiwanese patients with acute myocardial infarction, *Clinical Biochemistry*, **41**, 554–560.
152. Rudolph, V., Andrié, R.P., Rudolph, T.K., Friedrichs, K., Klinke, A., Hirsch-Hoffmann, B., Schwoerer, A.P., Lau, D., Fu, X., Klingel, K., Sydow, K., Didié, M., Seniuk, A., von Leitner, E.C., Szoecs, K., Schrickel, J.W., Treede, H., Wenzel,

- U., Lewalter, T., Nickenig, G., Zimmermann, W.H., Meinertz, T., Böger, R.H., Reichenspurner, H., Freeman, B.A., Eschenhagen, T., Ehmke, H., Hazen, S.L., Willems, S., Baldus, S. (2010) Myeloperoxidase acts as a profibrotic mediator of atrial fibrillation, *Nature Medicine*, **16**, 470–474.
153. Thukkani, A.K., Martinson, B.D., Albert, C.J., Vogler, G.A., Ford, D.A. (2005) Neutrophil-mediated accumulation of 2-CLHDA during myocardial infarction: 2-CLHDA-mediated myocardial injury, *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, **288**, H2955–H2964.
154. Steinberg, D. (1995) Clinical trails of antioxidants in atherosclerosis: are we doing the right thing? *Lancet*, **346**, 36–38.
155. Ланкин В.З., Тихазе А.К. (2016) Важная роль свободнорадикальных процессов в этиологии и патогенезе атеросклероза и сахарного диабета, *Кардиология*, **56**, № 12, 97–105.
156. Tikhaze, A.K., Lankin, V.Z., Mikhin, V.P., Revenko, V.M., Lupanov, V.P. (1997) The antioxidant probucol as a regulator of the intensity of free radical lipid peroxidation processes in the blood of patients with coronary atherosclerosis, *Terapevticheskii arkhiv*, **69**(9), 35–41.
157. Haberland, M.E., Fong, D., Cheng, L. (1988) Malondialdehyde-altered protein occurs in atheroma of Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits, *Science*, **241**, 215–218.
158. Palinski, W., Rosenfeld, M.E., Ylä-Herttuala S., Gurtner G.C., Socher S.S., Butler S.W., Parthasarathy S., Carew T.E., Steinberg D., Witztum J.L. (1989) Low density lipoprotein undergoes oxidative modification *in vivo*, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **86**, 1372–1376.
159. Ylä-Herttuala, S., Palinski, W., Rosenfeld, M.E., Parthasarathy S., Carew T.E., Butler S., Witztum J.L., Steinberg D. (1989) Evidence for the presence of oxidatively modified low-density lipoprotein in atherosclerotic lesions of rabbit and man, *Journal of Clinical Investigation*, **84**, 1086–1095.
160. Kühn, H., Belkner, J., Zaiss, S., Fährenklempner, T., Wohlfeil, S. (1994) Involvement of 15-lipoxygenase in early stages of atherogenesis, *Journal of Experimental Medicine*, **179**, 1903–1911.
161. Kühn, H., Belkner, J., Wiesner, R., Schewe, T., Lankin, V.Z., Tikhaze, K. (1992) Structure elucidation of oxygenated lipids in human atherosclerotic lesions, *Eicosanoids*, **5**, 17–22.
162. Jira, W., Spiteller, G., (1998) Strong increase in hydroxy fatty acids derived from linoleic acid in human low density lipoproteins of atherosclerotic patients, *Chemistry and Physics of Lipids*, **91**, 1–11.
163. Lankin, V.Z., Lisina, M.O., Arzamasstseva, N.E., Konovalova, G.G., Nedosugova, L.V., Kaminniy, A.I., Tikhaze, A.K., Ageev, F.T., Kukharchuk, V.V., Belenkov, Yu.N. (2005) Oxidative stress in atherosclerosis and diabetes. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, **140**, 41–43.
164. Salomon, R.G., Kaur, K., Podrez, E., Hoff, H.F., Krushinsky, A.V., Sayre, L.M. (2000) HNE-derived 2-pentylpyrroles are generated during oxidation of LDL, are more prevalent in blood plasma from patients with renal disease or atherosclerosis, and are present in atherosclerotic plaques, *Chemical Research in Toxicology*, **13**, 557–564.
165. Ланкин В.З., Тихазе А.К., Беленков Ю.Н. (2004) Антиоксиданты в комплексной терапии атеро-

- склероза: за и против, *Кардиология*, **44**, №2, 72–81.
166. Meyer, F., Bairati, I., Dagenais, G.R. (1996) Lower ischemic heart disease incidence and mortality among vitamin supplement users, *Canadian Journal of Cardiology*, **12**, 930–934.
167. Stumpfer, M.J., Hennekens, C.H., Manson, J.E., Colditz, G.A., Rosner, B., Willett, W.C. (1993) Vitamin E consumption and the risk of coronary disease in women, *New England Journal of Medicine*, **328**, 1444–1449.
168. Ghoshal, K., Das, S., Aich, K., Goswami, S., Chowdhury, S., Bhattacharyya, M. (2016) A novel sensor to estimate the prevalence of hypochlorous (HOCl) toxicity in individuals with type 2 diabetes and dyslipidemia. *Clinica Chimica Acta*, **458**, 144–153.
169. Tian, R., Ding, Y., Peng, Y., Lu, N. (2017) Myeloperoxidase amplified high glucose-induced endothelial dysfunction in vasculature: role of NADPH oxidase and hypochlorous acid, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **484**, 572–578.
170. García, A.G.; Rodríguez, M.R.; Alonso, C.G.; Ochoa, D.Y.R.; Aguilar, C.A. (2015) Myeloperoxidase is associated with insulin resistance and inflammation in overweight subjects with first-degree relatives with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes & Metabolism Journal*, **39**, 59–65.
171. Heinecke, J.W.; Goldberg, I.J. (2014) Myeloperoxidase: A therapeutic target for preventing insulin resistance and the metabolic sequelae of obesity? *Diabetes*, **63**, 4001–4003.
172. Rovira-Llopis, S., Rocha, M., Falcon, R., de Pablo, C., Alvarez, A., Jover, A., Hernandez-Mijares, A., Victor, V.M. (2013) Is myeloperoxidase a key component in the ROS-induced vascular damage related to nephropathy in type 2 diabetes? *Antioxidants & Redox Signaling*, **19**, 1452–1458.
173. Wiersma, J.J., Meuwese, M.C., van Miert, J.N., Kastelein, A., Tijssen, J.G., Piek, J.J., Trip, M.D. (2008) Diabetes mellitus type 2 is associated with higher levels of myeloperoxidase, *Medical Science Monitor*, **14**, CR406–410.
174. Lankin, V., Konovalova, G., Tikhaze, A., Shumaev, K., Kumskova, E., Viigimaa, M. (2014) The initiation of free radical peroxidation of low-density lipoproteins by glucose and its metabolite methylglyoxal: a common molecular mechanism of vascular wall injury in atherosclerosis and diabetes, *Molecular and Cellular Biochemistry*, **395**, 241–252.
175. Baynes, J.W. (1991) Role of oxidative stress in development of complications in diabetes, *Diabetes*, **40**, 405–412.
176. Kaviarasan, S., Muniandy, S., Qvist, R., Ismail, I.S. (2009) F<sub>2</sub>-Isoprostanes as novel biomarkers for type 2 diabetes: a review, *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, **45**, 1–8.
177. Davi, G., Falco, A., Patrono, C. (2005) Lipid peroxidation in diabetes mellitus, *Antioxidants & Redox Signaling*, **7**, 256–268.
178. Stamp, L.K.; Khalilova, I.; Tarr, J.M.; Senthilmohan, R.; Turner, R.; Haigh, R.C.; Winyard, P.G.; Kettle, A.J. (2012) Myeloperoxidase and oxidative stress in rheumatoid arthritis. *Rheumatology*, **51**, 1796–1803.
179. Nurcombe, H.L., Bucknall, R.C., Edwards, S.W. (1991) Activation of the neutrophil myeloperoxidase-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> system by synovial-fluid isolated from patients with rheumatoid

- arthritis, *Annals of the Rheumatic Diseases*, **50**, 237–242.
180. Baskol, G., Demir, H., Baskol, M., Kilic, E., Ates, F., Karakukcu, C., Ustidal, M. (2006) Investigation of protein oxidation and lipid peroxidation in patients with rheumatoid arthritis, *Cell Biochemistry and Function*, **24**, 307–311.
  181. Wang, W., Jian, Z., Guo, J., Ning, X. (2014) Increased levels of serum myeloperoxidase in patients with active rheumatoid arthritis, *Life Sciences*, **117**, 19–23.
  182. Fernandes, R.M., da Silva, N.P., Sato, E.I. (2012) Increased myeloperoxidase plasma levels in rheumatoid arthritis, *Rheumatology International*, **32**, 1605–1609.
  183. Ferreira, H.B., Melo, T., Paiva, A., Domingues, M.R. (2021) Insights in the role of lipids, oxidative stress and inflammation in rheumatoid arthritis unveiled by new trends in lipidomic investigations, *Antioxidants*, **10**(1), 45.
  184. Datta, S., Kundu, S., Ghosh, P., De, S., Ghosh, A., Chatterjee, M. (2014) Correlation of oxidant status with oxidative tissue damage in patients with rheumatoid arthritis, *Clinical Rheumatology*, **33**, 1557–1564.
  185. Aryaeian, N., Djalali, M., Shahram, F., Jazayeri, S.H., Chamari, M., Nazari, S.A. (2011) Beta-carotene, vitamin E, MDA, glutathione reductase and arylesterase activity levels in patients with active rheumatoid arthritis, *Iranian Journal of Public Health*, **40**, 102–109.
  186. Desai, P.B., Manjunath, S., Kadi, S., Chetana, K., Vanishree, J. (2010) Oxidative stress and enzymatic antioxidant status in rheumatoid arthritis: A case control study, *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, **14**, 959–967.
  187. Jira, W., Spiteller, G., Richter, A. (1997) Increased levels of lipid oxidation products in low density lipoproteins of patients suffering from rheumatoid arthritis, *Chemistry and Physics of Lipids*, **87**, 81–89.
  188. Łuczaj, W., Gindzienska-Sieskiewicz, E., Jarocka-Karpowicz, I., Andrisic, L., Sierakowski, S., Zarkovic, N., Waeg, G., Skrzydlewska, E. (2016) The onset of lipid peroxidation in rheumatoid arthritis: consequences and monitoring, *Free Radical Research*, **50**, 304–313.
  189. Nagra, R.M., Becher, B., Tourtellotte, W.W., Antel, J.P., Gold, D., Paladino, T., Smith, R.A., Nelson, J.R., Reynolds, W.F. (1997) Immunohistochemical and genetic evidence of myeloperoxidase involvement in multiple sclerosis, *Journal of Neuroimmunology*, **78**, 97–107.
  190. Reynolds, W.F., Rhees, J., Maciejewski, D., Paladino, T., Sieburg, H., Maki, R.A., Masliah, E. (1999) Myeloperoxidase polymorphism is associated with gender-specific risk for Alzheimer's disease, *Experimental Neurology*, **155**, 31–41.
  191. Green, P.S., Mendez, A.J., Jacob, J.S., Crowley, J.R., Growdon, W., Hyman, B.T., Heinecke, J.W. (2004) Neuronal expression of myeloperoxidase is increased in Alzheimer's disease, *Journal of Neurochemistry*, **90**, 724–733.
  192. Tzikas, S., Schlak, D., Sopova, K., Gatsiou, A., Stakos, D., Stamatelopoulos, K., Stellos, K., Laske, C. (2014) Increased myeloperoxidase plasma levels in patients with Alzheimer's disease, *Journal of Alzheimer's Disease*, **39**, 557–564.
  193. Maki, R.A., Tyurin, V.A., Lyon, R.C., Hamilton, R.L., DeKosky, S.T., Kagan, V.E., Reynolds, W.F. (2009) Aberrant expression of myeloperoxidase in astrocytes promotes

- phospholipid oxidation and memory deficits in a mouse model of Alzheimer disease, *Journal of Biological Chemistry*, **284**, 3158–3169.
194. Pennathur, S., Jackson-Lewis, V., Przedborski, S., Heinecke, J.W. (1999) Mass spectrometric quantification of 3-nitrotyrosine, ortho-tyrosine, and o,o'-dityrosine in brain tissue of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-treated mice, a model of oxidative stress in Parkinson's disease, *Journal of Biological Chemistry*, **274**, 34621–34628.
195. Choi, D.K., Pennathur, S., Perier, C., Tieu, K., Teismann, P., Wu, D.C., Jackson-Lewis, V., Vila, M., Vonsattel, J.P., Heinecke, J.W., Przedborski, S. (2005) Ablation of the inflammatory enzyme myeloperoxidase mitigates features of Parkinson's disease in mice, *Journal of Neuroscience*, **25**, 6594–6600.
196. Gray, E., Thomas, T.L., Betmouni, S., Scolding, N., Love, S. (2008) Elevated myeloperoxidase activity in white matter in multiple sclerosis, *Neuroscience Letters*, **444**, 195–198.
197. Pratico, D., Lee, V.M.-Y., Trojanowski, J.Q., Rokach, J., Fitzgerald, G.A. (1998) Increased F<sub>2</sub>-isoprostanes in Alzheimer's disease: Evidence for enhanced lipid peroxidation *in vivo*, *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, **12**, 1777–1783.
198. Sayre, L.M., Zelasko, D.A., Harris, P.L., Perry, G., Salomon, R.G., Smith, M.A. (1997) 4-Hydroxynonenal-derived advanced lipid peroxidation end products are increased in Alzheimer's disease, *Journal of Neurochemistry*, **68**, 2092–2097.
199. Lovell, M.A., Xie, C., Markesbery, W.R. (2001) Acrolein is increased in Alzheimer's disease brain and is toxic to primary hippocampal cultures, *Neurobiology of Aging*, **22**, 187–194.
200. Markesbery, W.R., Lovell, M.A. (1998) Four-hydroxynonenal, a product of lipid peroxidation, is increased in the brain in Alzheimer's disease, *Neurobiology of Aging*, **19**, 33–36.
201. Seet, R.C.S., Lee, C.-Y.J., Lim, E.C.H., Tan, J.J.H., Quek, A.M.L., Chong, W.-L., Looi, W.-F., Huang, S.-H., Wang, H., Chan, Y.-H. (2010) Oxidative damage in Parkinson disease: Measurement using accurate biomarkers, *Free Radical Biology and Medicine*, **48**, 560–566.
202. Petrovic, S., Arsic, A., Ristic-Medic, D., Cvetkovic, Z., Vucic, V. (2020) Lipid peroxidation and antioxidant supplementation in neurodegenerative diseases: A review of human studies, *Antioxidants*, **9**(11), 1128.
203. Blasco, H., Garcon, G., Patin, F., Veyrat-Durebex, C., Boyer, J., Devos, D., Vourc'h, P., Andres, C.R., Corcia, P. (2017) Panel of oxidative stress and inflammatory biomarkers in ALS: A pilot study, *Canadian Journal of Neurological Sciences*, **44**, 90–95.
204. Wang, Z., Bai, Z., Qin, X., Cheng, Y. (2019) Aberrations in oxidative stress markers in amyotrophic lateral sclerosis: A systematic review and meta-analysis, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2019**, 1712323.
205. Simpson, E., Henry, Y.K., Henkel, J., Smith, R., Appel, S. (2004) Increased lipid peroxidation in sera of ALS patients, *Neurology*, **62**, 1758–1765.
206. Dong, Y., Yong, V.W. (2022) Oxidized phospholipids as novel mediators of neurodegeneration, *Trends in Neurosciences*, **45**, 419–429.
207. Josephy, P.D. (1996) The role of peroxidase-catalyzed activation of aromatic amines in breast cancer, *Mutagenesis*, **11**, 3–7.

208. Petruska, J.M., Mosebrook, D.R., Jakab, G.J., Trush, M.A. (1992) Myeloperoxidase-enhanced formation of (+)-trans-7,8-dihydroxy-7,8-dihydrobenzo[a]pyrene-DNA adducts in lung tissue *in vitro*: a role of pulmonary inflammation in the bioactivation of a procarcinogen, *Carcinogenesis*, **13**, 1075–1081.
209. 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.
210. Jiang, Q., Blount, B.C., Ames, B.N. (2003) 5-Chlorouracil, a marker of DNA damage from hypochlorous acid during inflammation. A gas chromatography-mass spectrometry assay, *Journal of Biological Chemistry*, **278**, 32834–32840.
211. Henderson, J.P., Byan, J., Mueller, D.M., and Heinecke, J.W. (2001) The eosinophil peroxidase-hydrogen peroxide-bromide system of human eosinophils generates 5-bromouracil, a mutagenic thymine analogue, *Biochemistry*, **40**, 2052–2059.
212. Fedeles, B.I., Freudenthal, B.D., Yau, E., Singh, V., Chang, S., Li, D., Delaney, J.C., Wilson, S.H., Essigmann, J.M. (2015) Intrinsic mutagenic properties of 5-chlorocytosine: A mechanistic connection between chronic inflammation and cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **112**, E4571–E4580.
213. Hawkins, C.L., Davies, M.J. (2002) Hypochlorite-induced damage to DNA, RNA, and polynucleotides: formation of chloramines and nitrogen-centered radicals, *Chemical Research in Toxicology*, **15**, 83–92.
214. Panagopoulos, V., Leach, D.A., Zinonos, I., Ponomarev, V., Licari, G., Liapis, V., Ingman, W.V., Anderson, P., DeNichilo, M.O., Evdokiou, A. (2017) Inflammatory peroxidases promote breast cancer progression in mice via regulation of the tumour microenvironment, *International Journal of Oncology*, **50**, 1191–1200.
215. Mustea, A., Heinze, G., Sehouli, J., Koensgen, D., Wolf, A., Gutu, L., Sofroni, D., Pirvulescu, C., Braicu, E.I., Schuster, E., Zeillinger, R., Tong D. (2007) The -463G/A polymorphism in myeloperoxidase gene and cervical cancer, *Anticancer Research*, **27**, 1531–1535.
216. Zhu, H., Yang, L., Zhou, B., Yu, R., Tang, N., Wang, B. (2006) Myeloperoxidase G-463A polymorphism and the risk of gastric cancer: A case-control study, *Carcinogenesis*, **27**, 2491–2496.
217. London, S.J., Lehman, T.A., Taylor, J.A. (1997) Myeloperoxidase genetic polymorphism and lung cancer risk, *Cancer Research*, **57**, 5001–5003.
218. Jelic M.D., Mandic A.D., Maricic S.M., Srdjenovic B.U. (2021) Oxidative stress and its role in cancer, *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, **17**, 22–28.
219. Gentile, F., Arcaro, A., Pizzimenti, S., Daga, M., Cetrangolo, G.P., Dianzani, C., Lepore, A., Graf, M., Ames, P.R.J., Barrera, G. (2017) DNA damage by lipid peroxidation products: implications in cancer, inflammation and autoimmunity, *AIMS Genetics*, **4**, 103–137.
220. Thomas, R., Sharifi, N. (2012) SOD mimetics: a novel class of androgen receptor inhibitors that suppresses castration-resistant growth of prostate cancer, *Molecular Cancer Therapeutics*, **11**, 87–97.
221. Shah, M.H., Liu, G.-S., Thompson, E.W., Dusting, G.J., Peshavariya, H.M. (2015) Differential effects of superoxide dismutase and super-



- oxide dismutase/catalase mimetics on human breast cancer cells, *Breast Cancer Research and Treatment*, **150**, 523–534.
222. Панасенко О.М., Горудко И.В., Ковалева А.М., Гусев С.А., Сергиенко В.И., Матишов Д.Г. (2010) Продукция и реакционные свойства активных форм галогенов в механизмах канцерогенеза, *Вестник Южного научного центра РАН*, **6**, №3, 73–90.
223. Clemente, S.M., Martínez-Costa, O.H., Monsalve, M., Samhan-Arias, A.K. (2020) Targeting lipid peroxidation for cancer treatment, *Molecules*, **25**, 5144.
224. Панасенко О.М., Панасенко О.О., Бривба К., Сис Г. (1997) Гипохлорит разрушает каротиноиды в липопротеинах низкой плотности, снижая их резистентность к перекисной модификации, *Биохимия*, **62**, 1332–1338.
225. Estrbauer, H., Puhl, H., Waeg, G., Krebs, A., Tatzber, F., Rabol, H. (1993) Vitamin E and atherosclerosis – an overview. *Vitamin E.* / Eds. M. Mino, H. Nakamura, A.T. Diplock, H.J. Keyden. Токуо: Japan Sci. Soc. Press, 233–241.
226. Aguoma, O.I., Halliwell, B. (1987) Action of hypochlorous acid on the antioxidant protective enzymes superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase, *Biochemical Journal*, **248**, 973–976.
227. Григорьева Д.В., Горудко И.В., Соколов А.В., Костевич В.А., Васильев В.Б., Черенкевич С.Н., Панасенко О.М. (2016) Миелопероксидаза стимулирует дегрануляцию нейтрофилов, *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*, **161**, 483–488.
228. Горудко И.В., Михальчик Е.В., Соколов А.В., Григорьева Д.В., Костевич В.А., Васильев В.Б., Черенкевич С.Н., Панасенко О.М. (2017) Продукция активных форм кислорода и галогенов нейтрофилами при действии мономерных форм миелопероксидазы, *Биофизика*, **62**, 1114–1122.
229. Gorudko, I.V., Grigorieva, D.V., Sokolov, A.V., Shamova, E.V., Kostevich, V.A., Kudryavtsev, I.V., Syromiatnikova, E.D., Vasilyev, V.B., Cherenkevich, S.N., Panasenکو O.M. (2018) Neutrophil activation in response to monomeric myeloperoxidase. *Biochemistry and Cell Biology*, **96**, 592–601.
230. Gorudko, I.V., Grigorieva, D.V., Shamova, E.V., Kostevich, V.A., Sokolov, A.V., Mikhailchik, E.V., Cherenkevich, S.N., Arnhold, J., Panasenکو, O.M. (2014) Hypohalous acid-modified human serum albumin induces neutrophil NADPH oxidase activation, degranulation, and shape change, *Free Radical Biology and Medicine*, **68**, 326–334.
231. Горудко И.В., Вахрушева Т.В., Мухортова А.В., Черенкевич С.Н., Тимошенко А.В., Сергиенко В.И., Панасенко О.М. (2010) Праймирующее влияние галогенированных фосфолипидов на функциональные ответы нейтрофилов человека, *Биологические мембраны*, **27**, 314–324.
232. Панасенко О.М., Михальчик Е.В., Горудко И.В., Григорьева Д.В., Соколов А.В., Костевич В.А., Васильев В.Б., Черенкевич С.Н. (2016) Влияние антиоксидантов и сквенджеров гипогалоидных кислот на активацию нейтрофилов липопротеинами низкой плотности, модифицированными гипохлоритом, *Биофизика*, **61**, 500–509.
233. Sokolov, A.V., Kostevich, V.A., Runova, O.L., Gorudko, I.V., Vasilyev, V.B., Cherenkevich, S.N., Panasenکو, O.M. (2014) Proatherogenic modification of LDL by

- surface-bound myeloperoxidase, *Chemistry and Physics of Lipids*, **180**, 72–80.
234. Ito, T., Azuma, J. (2004) Taurine is a possible anti-atherosclerotic agent, *Nihon Yakurigaku Zasshi*, **123**(5), 311–317.
235. Zhang, R., Brennan, M.L., Shen, Z., MacPherson, J.C., Schmitt, D., Molenda, C.E., Hazen, S.L. (2002) Myeloperoxidase functions as a major enzymatic catalyst for initiation of lipid peroxidation at sites of inflammation, *Journal of Biological Chemistry*, **277**, 46116–46122.