

Активные формы кислорода как система: значение в физиологии, патологии и естественном старении

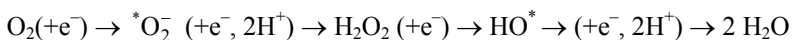
В. И. Донцов, В. Н. Крутько, Б. М. Мрикаев, С. В. Уханов

Введение

Активные формы кислорода (АФК), как стало понятно в последнее время, составляют отдельную систему в организме, участвующую как в ряде физиологических функций, так и во многих патологических процессах. Главным системообразующим фактором здесь, видимо, является текущий уровень АФК в тканях. Система АФК самоорганизована за счет положительных и отрицательных связей: имеется множество механизмов контроля — уровня генерации АФК в митохондриях и микросомах, контроля активности оксидаз и антиоксидантных ферментов тканей, суммарного уровня антиоксидантной активности (АО) крови. В ходе естественного старения организма (эволюции всего организма как более высокой надсистемы) изменяются различные элементы системы АФК; изменяется состояние системы АФК и в ходе различных патологических процессов. Знание системы самоорганизации АФК и основных закономерностей ее функционирования важно как для понимания закономерностей физиологического функционирования тканей организма в норме, так и особенностей течения многих патологических процессов и выбора способов активного влияния на них.

Активные формы кислорода — генерация и повреждение тканей

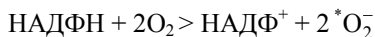
Известно, что энергия образуется в клетках в процессах окисления определенных субстратов, прежде всего, в ходе окислительного фосфорилирования [Владимиров Ю. А., 2000; Скулачев В. П., 1988]. Главными ферментами метаболизма кислорода у млекопитающих являются оксидазы и оксигеназы. Кроме 4-х электронного восстановления O_2 до H_2O в дыхательной цепи митохондрий, происходит и 1-, 2-, 3-электронное восстановление с образованием АФК по реакции:



Донорами электронов являются металлы с переменной валентностью (главным образом Fe^{2+} , а также Cu^{2+} и другие), входящие в состав ряда ферментов. АФК — это, с физико-химической точки зрения, прежде всего свободные радикалы, которые имеют на внешней электронной оболочке неспаренный электрон. АФК генерируются во всех частях клетки. 95–98 % вдыхаемого O_2 расходуется на выработку энергии и окислительный метаболизм субстратов, 2–5 % O_2 переходит в активные формы кислорода [Кулинский В. И., 1999; Cheesman K. H., Slater T. F., 1993]. В тканях организма кислород (O_2) обычно не вступает в неферментативные реакции, а в виде АФК [Скулачев В. П., 1988].

Важнейшими АФК считаются: супероксидный радикал ${}^*\text{O}_2^-$, синглетный кислород ${}^1\text{O}_2$, гидроксильный ${}^*\text{OH}$ и пероксидный HO_2^* радикалы, перекись водорода H_2O_2 , пероксидный ион HO_2^- , гипохлорит HOCl . Средняя концентрация их в тканях человека составляет 10^{-8} мМ. При снижении эффективности антиоксидантных систем организма АФК могут оказывать повреждающее воздействие на клетки и вызывать различные заболевания.

Основные механизмы генерации АФК связаны с нарушениями функционирования электронно-транспортных цепей митохондрий или микросом, особенно при низкой концентрации АДФ, а также при изменении свойств дегидрогеназ [Зайцев В. Г., 1998; Cross A. R., Jones O. T. G., 1991; Sandhu S. K., Kaur G., 2003]. Важна роль и системы цитохрома P-450, локализованной в эндоплазматической сети [Gutteridge J. M., 1994; Gottlieb E., Armour S. M., 2003]. Главным источником АФК в организме человека и животных служат клетки-фагоциты: гранулоциты, моноциты, макрофаги, нейтрофилы, эозинофилы [Болевич С. Б., 1998; Коган А. Х., 1999; Kinnula V. L., Soini Y., 2002]. Мембраны фагоцитов содержат ферментативный комплекс (НАДФН-оксидазу), который окисляет НАДФН до НАДФ^+ за счет восстановления O_2 до супероксидного радикала:



В фагоцитах комплекс НАДФН-оксидаза обеспечивает «окислительный взрыв» — быстрое избыточное образование ${}^*\text{O}_2^-$ в ходе стимуляции неспецифической защиты организма для разрушения бактерий [Маянский А. Н., Маянский Д. Н., 1983]. Фагоцит выделяет в окружающую среду АФК и ряд ферментов, среди которых миелопероксидаза катализирует реакцию образования гипохлорита из аниона хлора и перекиси водорода. Кроме того, в присутствии ионов железа происходит образование ${}^*\text{OH}$ радикала из перекиси водорода и гипохлорита. Активированные фагоциты

для борьбы с чужеродными клетками образуют ряд АФК, которые при взаимодействии друг с другом и с другими молекулами образуют также синглетный кислород $^1\text{O}_2$ [Владимиров Ю. А., 2000].

АФК генерируются в ходе различных процессов в организме. $^1\text{O}_2$ образуется и в реакциях фотоокисления в присутствии фотосенсибилизаторов: флавины, гематопорфирин и др., а также при дисмутации супероксидных радикалов [Зайцев В. Г., 2000]. $^1\text{O}_2$ агрессивен в отношении биосубстратов, в особенности молекул с двойной связью; конечным итогом таких реакций обычно является образование гидроперекисей органических молекул в процессах перекисного окисления ненасыщенных липидов в биомембранах [Осипов А. Н., Азизова О. А., Владимиров Ю. В., 1990]. В присутствии металлов с переменной валентностью эти продукты запускают цепные реакции окислительной деградации биомолекул с образованием липидных радикалов, пероксидов и гидропероксидов [Кулинский В. И., 1999; Владимиров Ю. А., 2000]. Перекисное окисление липидов осуществляется неферментативным путем, а также с участием липоксигеназ и циклооксигеназ. АФК вызывает также окисление нуклеотидов и нуклеиновых кислот, особенно ДНК и белков [Зайцев В. Г., 2000; Dizdaroglu M., 2002; Grune T., 2001; Levine R. L., 2001]. Главным защитным механизмом такого процесса является β -каротин, переводящий синглетный кислород в триплетный, однако, обычная вода и α -токоферол также способны инактивировать $^1\text{O}_2$. В клинической практике $^1\text{O}_2$ участвует в кожных проявлениях некоторых генетических заболеваний — порфирий, а также в процессах эритемы при ультрафиолетовом облучении кожи при приеме лекарств, обладающих фотосенсибилизирующим действием [Кулинский В. И., 1999].

В процессе присоединения электрона к молекуле O_2 образуются супероксидный анион-радикал $^*\text{O}_2^-$ и гидроперекисный радикал HO_2^* ; оба они порождают ряд других АФК [Зенков Н. К., Меньшикова Е. Б., 1993; Bar-Or D., Sohal R. S., Swenson I., Brunk U. T., 1990; Sohal R. S., Dubey A. M., 1994]. Основное количество $^*\text{O}_2^-$ образуется в митохондриях, которые используют 85–99 % потребляемого O_2 [Fridovich I., 1997]. Генерация $^*\text{O}_2^-$ происходит в дыхательной цепи и микросомах при случайных сбоях в цепи переноса электронов, особенно при недостатке O_2 [Зайцев В. Г., 2000]. Эти радикалы играют также важную роль в защитных неспецифических иммунных механизмах организма при инфекционных и других воспалительных процессах. Основными источниками $^*\text{O}_2^-$ являются ферментные системы: НАДФН-оксидаза фагоцитирующих клеток, ксантиноксидаза, митохондриальная цитохром *c*-оксидаза и микросомальные монооксигеназы [Зенков Н. К., Меньшикова Е. Б., 1993, 1980]. Гидроперекисный радикал HO_2^* — реагирует с линолевой, линоленовой,

арахидоновой кислотами, окисляя их до гидроперекисей. Образованию HO_2^* радикала способствует закисление среды, он также свободно проникает через биомембраны, так как не несет заряда [Chance B., Sies H., Boveris A., 1979; Reeder B. J., Wilson M. T., 2001]. Гидроперекиси липидов являются активными соединениями и обладают высокой биологической агрессивностью. Для протекания цепного окисления липидов в биологических мембранах необходимы переходные металлы, в частности, ионы железа.

Дисмутация O_2^- анион-радикалов под действием супероксиддисмутазы (СОД) в биологических тканях ведет к образованию перекиси водорода H_2O_2 , способной легко проникать через мембраны клеток. H_2O_2 обнаруживается при фагоцитозе, при работе митохондрий и микросом [Гамалей И. А., Клюбин И. В., 1996; Зайцев В. Г., 2000]. В присутствии ионов переходных металлов (например Fe^{2+}) перекись водорода может давать высоко активный гидроксильный радикал (OH^*), обладающий наибольшей цитотоксичностью среди АФК [Владимиров Ю. А., 2000]. Это определяет его преимущественно местное действие. При этом главными видами повреждений биомолекул являются: отрыв атома водорода (таким образом повреждается лецитин — компонент биологических мембран, а также сахара в составе нуклеозидов ДНК); присоединение к молекулам по двойным связям (взаимодействие с пуринами и пиримидинами ДНК и РНК, перенос электронов также является важным в повреждающем действии $^*\text{OH}$ [Гамалей И. А., Клюбин И. В., 1996; Dizdaroglu M., 2002; Klungland A., Rosewell I., Zhang S., 2002]. Прямое повреждение ДНК при этом характеризуется разрывом цепи, окислением оснований, их модификации, образованием гидропероксидов ДНК, повреждением хромосом. С белками $^*\text{OH}$ образует гидропероксиды, что может изменить третичную структуру белков и даже вызывать их агрегацию и денатурацию [Зайцев В. Г., 2000; Beckman K. B., 1997; Vox H. C., Dawidzik J. B., Budzinski R. E. E., 2001]. Это приводит к нарушению ферментативной и регуляторной активности многих процессов. С липидами $^*\text{OH}$ образует перекисные соединения [Владимиров Ю. А., 2000]. В образовании радикала $^*\text{OH}$ важное значение имеют ионы металлов с переменной валентностью, в первую очередь Fe^{2+} , входящие в состав гемоглобина, миоглобина и др.); в крови они находятся в связанной форме — с трансферрином [Зайцев В. Г., 2000; Comporti M., 2002]. Отмечена генерация $^*\text{OH}$ радикала и под действием связанного железа — лактоферрина, а также при действии гемоглобина на перекись водорода [Гамалей И. А., Клюбин И. В., 1996]. Реакция цепного окисления липидов играет важную роль в клеточной патологии [Владимиров Ю. А., 2000; Каган В. Е., Орлов О. Н., Прилипка Л. Л., 1986]. Она начинается с внедрения в липидный слой мембран радикала $^*\text{OH}$.

Будучи незаряженным, он способен проникать в толщу гидрофобного липидного слоя и вступать в химическое взаимодействие с полиненасыщенными жирными кислотами биологических мембран и липопротеинов плазмы крови [Кузменко Д. И., 1999]. При этом образуются липидные радикалы, которые вступают в реакцию с растворенным в среде O_2 , образуя радикал липоперекиси. Этот радикал атакует одну из соседних молекул фосфолипида с образованием гидроперекиси липида и нового радикала. Далее развивается цепная реакция. При чрезмерном накоплении АФК и вторичных продуктов возникают патологические состояния, называемые оксидативным стрессом [Скулачев В. П., 1996; Khodr B., Khalil Z., 2001; Orrienis S., McConcey D. J., Nicotera P., 1998].

АФК могут генерироваться и при инактивации в организме многих ксенобиотиков [Кулинский В. И., 1999]. В этом процессе принимает участие локализованная в мембранах эндоплазматической сети микросомальная система цитохрома Р-450, которая приводит к гидрофильности ксенобиотика и снижению его активности, а затем следует выведение его из организма.

Основными методами изучения реакций с участием радикалов являются: электронный парамагнитный резонанс, хемилюминесценции и ингибиторный анализ [Зайцев В. Г., 2000; Valgimigli L., Pedulli G. F., Paolini M.: 2001].



Схема 1. Общая схема формирования активных форм кислорода и антиоксидантной защиты организма

Общая картина генерации и инактивации АФК может быть представлена следующим образом — схемы 1, 2, табл. 1, 2, 3.

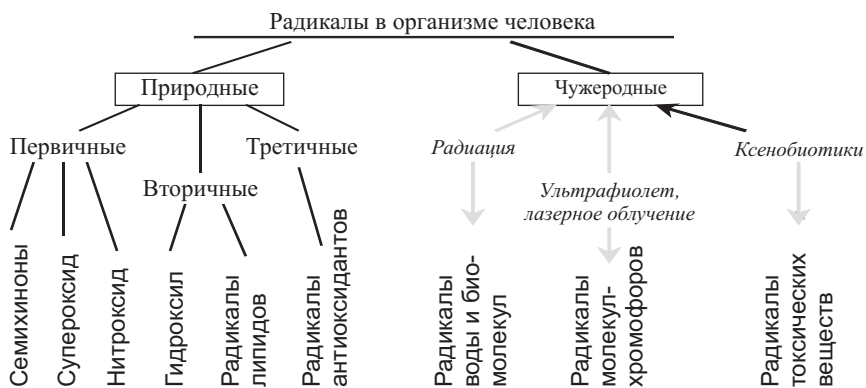


Схема 2. Классификация свободных радикалов

Таблица 1

Первичные радикалы

Название	Структура	Образуется	Биологическая роль
Супероксид	OO^-	НАДФН-оксидаза	Антимикробная защита
Нитроксид	NO	NO-синтаза	Фактор расслабления сосудов
Убихинол	Q	Дыхательная цепь митохондрий	Переносчик электронов

Таблица 2

Молекулы, образующие свободные радикалы

Название	Структура	Образуется	Биологическая роль
Перекись водорода	$HOOH$	Супероксиддисмутазы, оксидазы	Субстрат миелопероксидазы
Гидроперекиси липидов	$LOOH$	Цикло-оксигеназа	Фактор расслабления сосудов
Гипохлорит	$HOCl$		

Таблица 3

Вторичные радикалы

Название	Структура	Образуется в реакции
Радикал гидроксила	ОН	$\text{Fe}^{2+} + \text{HOON} \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{HO}^- + \text{OH}$ $\text{Fe}^{2+} + \text{ClO}^- \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{Cl}^- + \text{OH}$
Липидные радикалы	LO L LOO	$\text{Fe}^{2+} + \text{LOON} \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{HO}^- + \text{LO}\cdot$ $\text{LO}\cdot + \text{LH} \rightarrow \text{LH} + \text{L}\cdot$ $\text{L}\cdot + \text{O}_2 \rightarrow \text{LOO}\cdot$

Защита организма от АФК

Все АФК являются окислителями клеточных компонентов и в больших количествах необратимо повреждают клетки [Владимиров Ю. А., 2000]. Защита организма от АФК осуществляется функционированием системы антиоксидантной системы (АОС). АОС включает низкомолекулярные антиоксиданты (АО) и систему ферментов. Среди антиоксидантных ферментов выделяют три линии защиты:

- 1) СОД, каталаза, пероксидаза,
- 2) глутатион-пероксидаза и глутатионтрансфераза,
- 3) селеновая глутатионтрансфераза [Кулинский В. И., 1999].

СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗА (СОД) является важным ферментом антиоксидантной защиты, переводящим супероксидные радикалы $^*\text{O}_2^-$ в перекись водорода, которая уже менее активна и разлагается при участии других ферментов. Показано, что клетка быстро реагирует на окислительный стресс повышением активности СОД и синтезом глутатиона [Зайцев В. Г., 2000]. СОД рассматривается даже как стресс-белок, синтезируемый в ответ на окислительный стресс [McCord J. M., 1990]. Существует несколько форм СОД: в цитозоле клеток Cu и Zn-зависимые СОД, в митохондриях Mn-зависимая СОД, у бактерий Fe-зависимая СОД. В печени крысы и человека обнаружена Mn-содержащая СОД. Этот фермент ускоряет распад $^*\text{O}_2^-$ на 4 порядка. СОД — фермент, устойчивый в диапазоне от -20 до $+80^\circ\text{C}$, его полная инактивация достигается при 130°C , а кипячение в течение 30 мин снижает активность на 70 %. Фермент состоит из двух субъединиц с общей молекулярной массой 32 кДа, содержащий по одному атому Cu и Zn [Владимиров Ю. А., 2000].

КАТАЛАЗА. Перекись кислорода является предшественником очень реакционного радикала OH^* . Каталаза прерывает этот процесс, расщепляя

H_2O_2 до H_2O и O_2 . В клетках каталаза в основном сосредоточена в пероксисомах, в которых содержатся и ферменты, продуцирующие перекись водорода, необходимую в ряде процессов жизнедеятельности организма, в частности, в системах неспецифической иммунной защиты [Владимиров Ю. А., 2000]. Каталаза присутствует в разных тканях организма человека и животных. Максимальные количества ее обнаруживаются в эритроцитах, печени и почках. Каталаза обычно длительно сохраняет свою активность, почти не требует энергии активации для своей деятельности, поэтому скорость действия этого фермента лимитирована лишь скоростью диффузии субстрата к активному центру. Ряд исследователей наблюдали повышение активности каталазы (до 17 раз) при гепатитах, лизисе эритроцитов, панкреатитах, и снижение — при хронических легочных заболеваниях, ревматоидном артрите и лейкозах. Активность каталазы обычно снижается при гипоксии (видимо, компенсаторно), что наблюдается при хронических заболеваниях легких, в то же время, острая пневмония сопровождается повышением активности фермента [Зайцев В. Г., 1998; Кулинский В. И., 1999].

Активность каталазы эритроцитов снижается при лейкозах, ревматоидном артрите и болезни Шонлейн-Геноха; в моче активность каталазы повышена при гематурии, бактерии и лейкоцитурии, в кале — при дизентерии и острых энтеритах; повышение активности каталазы в ликворе указывает на явления деструкции ткани мозга.

ПЕРОКСИДАЗА, в особенности глутатион-пероксидаза, широко распространена в клетках животных. Глутатион-пероксидаза состоит из 4 субъединиц, в каждой из которых содержится по атому селена. В клетках этот фермент присутствует в цитозоле и матриксе митохондрий. Он участвует в восстановлении H_2O_2 и органических гидропероксидов свободных жирных кислот, нуклеотидов, нуклеиновых кислот и, вероятно, белков [Кулинский В. И., 1999а], переводя восстановленный глутатион в окисленный. Затем глутатионредуктаза восстанавливает окисленный глутатион. Активность глутатион-пероксидазы зависит от содержания глутатиона клетки, что, в свою очередь, определяется активностью глутатионредуктазы и концентрацией НАДФ*Н, который образуется в пентозофосфатном метаболическом цикле [Зайцев В. Г., 2000; Лазорик М. И., 1981]. Лимитирующими по активности фермента являются легкие, мышцы, глаза.

Другие формы защиты от АФК

В инактивации АФК в организме участвуют также многие другие молекулы и ферментные системы [Осипов А. Н., Азизова О. А., Владимиров Ю. А., 1990]. Классические в настоящее время антиоксиданты — ви-

тамины А, С, Е и каротиноиды, активны почти ко всем АФК без участия ферментов [Sharma S., Sharma R., 2001]. АО перехватывают АФК и восстанавливают их [Jaruga P. et al., 2002; Lournzi V., Melino G., Savini M., 1994]. Гидрофильные АО (восстановленный глутатион и аскорбиновая кислота, карнозин, ансерин) защищают вещества гиалоплазмы и матрикса митохондрий, а гидрофобные АО (витамины Е и А и другие каротиноиды) локализованы в мембране и там же инактивируют АФК. Аскорбиновая кислота инактивирует СР, образуя неактивный радикал (семидегидроаскорбат), она же является кофактором пероксидазы. Глутатион, присутствуя в клетках в высоких концентрациях, является акцептором OH^* радикала и синглетного кислорода, а также кофактором глутатион-пероксидазы и глутатионредуктазы. Это главный восстановитель клетки, его концентрация (1–10 мМ) выше, чем большинства органических веществ. Он прямо восстанавливает АФК, перекисные соединения и обезвреживает вторичные метаболиты окисления. Из других жирорастворимых агентов антиоксидантной активностью обладают стероидные гормоны, билирубин; из водорастворимых — церулоплазмин (влияя на свободное железо крови), трансферрин, альбумин, SH-группы белков. Мочевая кислота присутствует в крови в достаточных количествах, чтобы эффективно акцептировать синглетный кислород и гидроксильный радикал. Подобными эффектами обладают этанол, маннит, глюкоза и некоторые другие органические вещества. В клинике применяются модифицированные препараты СОД и каталазы [Максименко А. В., 1993].

В целом, взаимоотношения в системе АФК могут быть представлены на следующей схеме (схема 3).

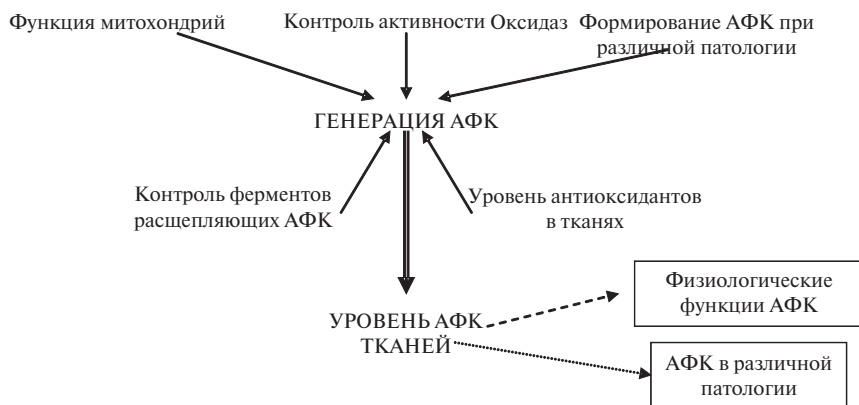


Схема 3. Система АФК — системообразование, самоподдержание, положительные и отрицательные связи.

АФК как физиологические агенты

В последние годы становится все более ясным, что генерация умеренных количеств АФК является совершенно необходимым элементом физиологического состояния клеток всех типов [Скулачев В. П., 1996; Владимиров Ю. А., 2000; Подколзин А. А. и др., 2001; Донцов В. И., 2002]. Наиболее известные, классические, представления о защитной роли АФК касаются их участия в неспецифическом иммунитете макрофагов и в микросомальном окислении самых разнообразных химических соединений — их детоксицирующая роль.

Образование АФК является важным защитным механизмом неспецифического иммунитета [Чекнеев С. Б., 1999; Ozaki Y., Ohashi T., Niva Y., 1986; Демченко Т. В., 1999; Донцов В. И. 1998; Козлов Ю. А. 1997; Передерий В. Г. 1995]. В настоящее время доказано участие АФК в процессах фагоцитоза [Болевич С. Б., 1998; Коган А. Х., 1999; Langerman J. F. M. et al., 1994; Ujihara M. et al., 2001]. Фагоциты активируются бактериями (или механическими частицами, лектинами и пр.), что сопровождается активацией ферментного комплекса плазматической мембраны — НАДФ*Н-оксидазы с образованием $^*O_2^-$ из O_2 . [Ройт А., Бростофф Дж., 2000]. Это приводит к быстрому многократному повышению содержания $^*O_2^-$ и H_2O_2 в фагоцитирующих клетках с одновременным увеличением ими потребления кислорода в 20 и более раз («дыхательный взрыв») [Маянский А. Н., Маянский Д. Н., 1983; Кулинский В. И., 1999]. До 90 % потребленного O_2 идет на образование $^*O_2^-$, а затем H_2O_2 [Гамалей И. А., Клубин И. В., 1996]. В процессе генерации АФК участвуют ФАД-содержащий флавопротеин и цитохром *b*. В конечном счете при участии ионов Fe^{2+} происходит дисмутация $^*O_2^-$ до H_2O_2 . Кроме того, миелопероксидаза нейтрофилов приводит к образованию гипохлорита. Высвобождение АФК в ходе «дыхательного взрыва» происходит как в фагосомы, так и в среду. Эти АФК разрушают бактерии и поврежденные, старые, иммунологически несовместимые злокачественные клетки [Tan S., Wood M., 1988].

Снижение активности НАДФ*Н-оксидазы в фагоцитах приводит инфекции и сепсису [Bone R. S., 1992; Cohen J., 1995; Xin M. G. et al., 2003]. Для защиты от АФК нейтрофилы содержат каталазу и глутатион-пероксидазу. Активация нейтрофилов сопровождается также любые явления некроза ткани, в том числе микроинфаркты [Кулинский В. И., 1999; Nathan C. F. et al., 1979]. В запуске аутоиммунных процессов участвуют и окисленные липиды, обладающие антигенными свойствами [Владимиров Ю. А., 2000].

Сейчас становится ясно, что АФК являются важными физиологическими агентами в самой клетке. Они способны оказывать самые разнооб-

разные регуляторные эффекты и опосредовать общие адаптационные реакции клетки, известные в настоящее время как «оксидативный стресс».

АФК, как отмечено, стимулируют апоптоз — программируемую гибель клеток, путем раскрытия каналов мембраны митохондрий для белка, находящегося в межмембранном пространстве и запускающего этот процесс при переносе в ядро.

Ниже перечислены основные обнаруженные в настоящее время физиологические эффекты перекиси водорода в биосистемах:

- стимуляция неспецифического иммунитета (фагоцитоз) — антиинфекционный эффект, регуляция воспаления;
- стимуляция специфического иммунитета (А-клетки, Т-лимфоциты);
- стимуляция антиопухолевого иммунитета (ЕК, ИЛ-1 из А-клеток);
- стимуляция регенерации (через Т-регуляторы деления клеток, через сосудистые реакции, А-клетки и др.);
- внутриклеточные регуляторы клеточного деления;
- регуляторы апоптоза в клетке;
- межклеточные переносчики апоптоза;
- регуляторы сосудистого тонуса (через NO и, возможно, непосредственно);
- регуляция обновления мембран клеток (умеренный процесс накопления ПОЛ является физиологическим стимулятором их самообновления);
- общеадаптационные эффекты (оксидативный стресс и дистресс) и др.

АФК в неспецифическом иммунитете и воспалении

Известно, что неспецифический иммунитет во многом определяет характер и длительность воспалительных процессов [Воложин А. И., Сашкина Т. И., Савченко З. И., 1995; Меньшикова Е. Б., Зенков Н. Л., 1997; Хаитов Р. М. и др., 1994; Winrow V. R. et al., 1993] и образование АФК является важным защитным механизмом неспецифического иммунитета [Чекнеев С. Б., 1999; Ozaki Y., Ohashi T., Niva Y., 1986; Демченко Т. В., 1999; Донцов В. И. 1998; Козлов Ю. А. 1997; Передерий В. Г. 1995], в основном на уровне фагоцитоза [Болевич С. Б., 1998; Коган А. Х., 1999; Langerman J. A. M. et al., 1994; Ujihara M. et al., 2001]. Быстрый процесс многократного повышения содержания $^*O_2^-$ и H_2O_2 в фагоцитирующих клетках известен как «дыхательный взрыв») [Маянский А. Н., Маянский Д. Н., 1983; Кулинский В. И., 1999] — до 90 % потребленного O_2

идет на образование $^*O_2^-$, а затем H_2O_2 . Высвобождение АФК в ходе «дыхательного взрыва» происходит как в фагосомы, так и в среду, разрушая бактерии и повреждая старые, а также иммунологически несовместимые и злокачественные клетки [Tan S., Wood M.: 1988]. Снижение активности НАДФ*Н-оксидазы в фагоцитах приводит к инфекции и сепсису [Bone R. S., 1992; Cohen J., 1995; Xin M. G. et al., 2003]. Активация нейтрофилов наблюдается при любых явлениях некроза ткани, в том числе микроинфарктах [Кулинский В. И., 1999, Nathan C. F. et al., 1979], с формированием аутоиммунных процессов — в них, видимо, участвуют окисленные липиды, обладающие антигенными свойствами [Владимиров Ю. А., 2000].

АФК способны вызывать бронхоконстрикцию. Гистамин в ходе развития хронических обструктивных заболеваний легких способен вызывать генерацию АФК вследствие извращения реакции на него нейтрофилов; сходным образом действует и ацетилхолин [Зайцев В. Г., 2000].

Приведенные факты позволяют заключить, что воспалительные заболевания — это патологический процесс, в котором активное участие принимают АФК, вмешиваясь в него на самых различных уровнях — инициации, протекания и регуляции.

Участие АФК в процессах старения организма

Процессы воспаления, иммунные процессы и интенсивность процессов регенерации — заживления, во многом зависят от возрастных изменений при старении организма [Донцов В. И., 1998; Burbon R. H., 1994; Duval C., 2003; Elliott S. J., Meszaros J. G., 1992; Mody N. et al., 2001]. Современная геронтология рассматривает старение как комплексный и многогранный процесс, который влияет на протекание фактически всех физиологических и патологических процессов в организме [Возрастная физиология, 1975; Finkel T., 2000]. В 1954 г. Д. Харман предложил гипотезу о том, что причиной старения организмов является свободнорадикальное окисление липидов, белков и других компонентов клеток [Harman D., 1994]. В механизмах старения, безусловно, важное значение имеют повреждения биомолекул внутренними и внешними факторами при окислительном метаболизме [Гусев В. А., 2000; Донцов В. И., Крутько В. Н., Подколзин А. А., 2002; Barja G., 2002; Burlacu J. et al., 2001; Cutler R. G., Rodrigues H., World H., 2003]. Установлено, что его интенсивность для многих видов обратно пропорциональна длительности жизни, хотя некоторые авторы отмечают, что это соблюдается достаточно хорошо только для относительной скорости обмена на единицу массы, причем в расчете на единицу активности СОД [Болдырев А. А., 2001; Гусев В. А., 2000; Ono T., Okada S., 1984; Orr W. C., Sohal R. S., 1980]. Установлено, что с возрастом

в тканях человека и животных повышается содержание продуктов окислительного повреждения макромолекул, в том числе ДНК.

Возможно, АФК стимулируют апоптоз — программируемую гибель клеток путем раскрытия каналов клеточной мембраны для белка, находящегося в межмембранном пространстве и запускающего этот процесс, во всяком случае, известно, что введение каталазы в клетку прерывает любые формы апоптоза [Лю Б. Н., 2000; Хансон К. П., 1999; Pollack M., 2001; Zhang J., 2002]. Гипоксия, типичная для процессов старения, является одной из самых частых причин гибели клеток. Установлено, что это связано с нарушением барьерных свойств биологических мембран вследствие перекисного окисления липидов.

Последние исследования указывают на то, что наиболее значимым при старении и возрастной патологии является также усиленное перекисное окисление белков, чему способствует снижение активности СОД как результат уменьшения общей продукции АФК [Анисимов В. Н. и др., 1999, 2000].

Анализ данных об участии АФК в механизмах старения позволяет ряду авторов утверждать, что повреждающее действие АФК на макромолекулы приводит к развитию ряда возрастных патологий: рак, сердечно-сосудистые заболевания, возрастная иммунодепрессия, дисфункция мозга, катаракта и др. [Кольтовер В. К., 2000; Cutler R. G., Rodrigues H., World H., 2003].

Было выполнено много исследований возможного применения антиоксидантов в качестве геропротекторов в опытах на животных, а также средств коррекции возрастной патологии у человека [Анисимов, 2000; Harman etc., 1994, 1999; Kitani, Minami, 2001]. Однако способы «тушения» АФК антиоксидантами и фармакокоррекция АОС организма часто оказываются мало эффективными. Активность АОС организма очень высока и специфична. Более перспективными представляются способы повышения активности СОД, каталазы и пероксидазы — главных ферментов АОС [Кольтовер В. К., 2000].

Новые методы контроля антиоксидантной системы

Анализ путей фармакологической стимуляции антиоксидантных механизмов защиты организма показывает, что некоторые средства оказываются высоко эффективными в эксперименте и клинике. Важнейшим механизмом действия таких средств является влияние их на окислительно-восстановительный потенциал (ОВП) водных сред и макромолекул организма. В настоящее время актуальным становится разработка новых методов получения веществ с требуемыми показателями ОВП с применением

электрохимически активированных систем (ЭХАС) на основе обычной воды или водных растворов [Бахир В. М., 2001; Беликов Г. П. с соавт., 2000; Подколзин А. А. с соавт., 2000, 2001; Прилуцкий В. И., Бахир В. М., 1997; Станулис А. И. с соавт., 2000, 2001]. Для получения ЭХАС с обогащенными ионами H^+ или OH^- вода или раствор пропускается через электростатическое поле высокой напряженности в катодной или анодной камерах диафрагменного электрохимического реактора. Раствор, полученный при катодной обработке, называется католитом, а при анодной — анолитом. Для ЭХАС установлены три основных действующих фактора:

1. Образование устойчивых химических соединений: кислот в анолите (анодная обработка) и щелочей в католите (катодная обработка), изменяющих *pH* жидкости, что может быть использовано для коррекции *pH* и кислотно-щелочного равновесия крови.
2. Формирование неустойчивых, метастабильных, суперактивных соединений. Это — высоко окисленные формы ионов и молекул, свободные радикалы, изменяющие ОВП и оказывающие тренирующее воздействие на системы защиты организма.
3. Возникновение метастабильных структурных аномалий воды под действием электростатического поля высокой напряженности у электродов (до 8 кВ/см.), что не влияет на *pH* и ОВП, но существенно изменяет биофизические свойства растворенных молекул и условия активации веществ в ходе ферментативных реакций, а также изменяет реакции на границе пленок и клеточных мембран.

Имеется единственный патент на использование ЭХАС в клинической практике для лечения гнойных ран, ожогов, воспалительных процессов слизистых оболочек и ряда других патологических процессов кожи и слизистых [Подколзин А. А. и соавт., 1983]. Установлено, что католиты способствовали ускорению регенерации, заживлению ран и восстановлению функций, ликвидировали тканевой ацидоз и приводили в норму многие параметры организма, нарушаемые в ходе патологического процесса. Важным свойством ЭХАС является также их способность очищать воду, используемую для самых различных целей.

Другим современным методом воздействия на систему АФК является новый отечественный иммуномодулятор — Галавит [Донцов В. И., Подколзин А. А., 2001; Хохлов А. П., Калюжин О. В., Абидов М. Т., 1998; Любина Л. В. и др., 1998; Гришина Т. И., 2000 и др.]. Это — достаточно простой по химический структуре препарат, показавший к настоящему времени свое высокое лечебное действие при самых различных патологических состояниях. Первичным механизмом действия галавита является умеренная обратимая супрессия макрофагов. Показано снижение синтеза ДНК, РНК и белка (в 2–5 раз) макрофагов при отсутствии влияния на ды-

хание макрофагов (в норме и при стимуляции заимозаном). Препарат нормализует (в зависимости от линии мышей) синтез антител, повышает Е-РОК (Т-лимфоциты) и ЕАС-РОК (В-лимфоциты), повышает КонА-РБТЛ (Т-супрессоры) и снижает ЛПС-РБТЛ (В-лимфоциты), стимулирует продукцию ИЛ-1 и ФНО, оказывает костимуляцию для продукции ИЛ-2 на низкие дозы КонА, снижает АДФ-активацию тромбоцитов (свертываемость) и снижает рост перевиваемой опухоли (Льюиса).

Известные эффекты галавита в клинике: препарат не токсичен, не мутагенен, не аллергенен, не канцерогенен. Показано противовоспалительное, антидиаррейное и детоксикационное действие при инфекциях ЖКТ, дыхательной системы, урогенитальных, туберкулезе и сибирской язве, отмечено повышение микро-биоцидной активности макрофагов и повышение антивирусной активности в т. ч. при гепатитах. Показано регенерирующее действие при язвенной болезни и неспецифическом язвенном колите, антиметастатическая активность и эффект при аденоме простаты (действие на сосудистый механизм); отмечено анти-ишемическое действие на печень.

Все эти воздействия относятся к методам активной тренировки АО системы и АФК за счет индукции умеренной генерации АФК, что ведет к повышению мощности всей АО системы и системы контроля АФК, и приводит к общей адаптации и биостимуляции. Это также: использование озона, нормобарической гипоксии, кислородотерапия, как и применение выше разобранных электрохимически-активированных соединений (ЭХАС) и новых препаратов типа окислительно-восстановительного энерго-буфера — «Галавита» и пр. Эти воздействия могут оказывать общую адаптивную функцию также и в ходе естественного старения, повышая общий адаптивный потенциал тканей и биостимулируя весь организм.

Заключение.

АФК как отдельная система организма

Активные формы кислорода (АФК) представляют собой **отдельную систему** в организме, главным **системообразующим фактором** которой является текущий уровень АФК в тканях.

Система **самоорганизована** за счет контроля уровня генерации АФК в митохондриях и микросомах, контроля активности оксидаз и антиоксидантных ферментов тканей, суммарного уровня антиоксидантной активности (АО) крови.

В ходе старения снижается активность генерации АФК при относительной сохранности АО ферментов; уровень АФК повреждений в тканях и крови при этом отражает скорее общее снижение самообновления мак-

ромолекул, однако, повышение общей АО активности в старости может препятствовать одному из центральных механизмов старения — процессам свободно-радикального повреждения тканей.

Поддержание на определенном уровне АФК тканей важно для регуляции нормальных физиологических процессов в организме: уровня неспецифической и специфической иммунной защиты, уровня периферического сосудистого тонуса, уровня самообновления мембран клетки, сохранности механизма апоптоза — «выбраковки» функционально и структурно неполноценных и ненужных клеток; АФК участвуют в процессах рецепторной регуляции клетки, в ряде других физиологических процессах.

Нарушения системы генерации и, особенно, защиты от АФК, приводит к нарушению течения воспалительных процессов, играет патогенетическую роль в процессах оксидативного некроза при ишемии тканей и синдроме реперфузии, снижает общий и специфический иммунитет.

Нарушения АО системы и АФК, в той или иной мере, возможно, видимо, при любых формах патологии, поэтому контроль АО активности тканей и снижение гипергенерации АФК является важной формой общепатогенетического лечения и профилактики широкого спектра заболеваний.

Кроме широко используемого подхода ограничения уровня АФК, в последнее время все шире стали применяться методы активной тренировки АО системы и АФК за счет индукции умеренной генерации АФК, что ведет к повышению мощности всей АО системы и системы контроля АФК, и приводит к общей адаптации и биостимуляции. Это: использование озона, нормобарической гипоксии, кислородотерапия, применение электрохимически-активированных соединений (ЭХАС), новых препаратов типа окислительно-восстановительного энерго-буфера — «Галавита» и пр. Эти воздействия могут оказывать общую адаптивную функцию также и в ходе естественного старения, повышая общий адаптивный потенциал тканей и биостимулируя весь организм. Особый интерес, проявляемый в настоящее время к изучению активных форм кислорода (АФК), объясняется широким спектром их физиологических эффектов и участием во многих патологических процессах; известна также важная роль АФК в процессах старения.

Литература

1. Анисимов В. Н. // Успехи геронтологии. 2000. Вып. 4. С. 55–74.
2. Анисимов В. Н., Арутюнян А. В., Опарина Т. И., Бурмистров С. О., Прокопенко В. М., Хавинсон В. Х. // Российский физиол. ж. 1999. Т. 85. № 4. С. 502–507.
3. Бахир В. М. Электрохимическая активация: очистка воды и получение полезных растворов. М.: ВНИИМИ, 2001. 176 с.

4. *Беликов Г. П., Локтионова Н. В., Мельникова В. М., Бахир В. М., Сухова О. И., Прилуцкий В. И., Окropicридзе Г. Г., Туманов Ф. А.* Кремлевская медицина // Клинический вестник. 2000. № 2. С. 55–60.
5. *Болдырев А. А., Юнева М. О.* // Биохимия. 2001. Т. 6. № 10. С. 1157–1163.
6. *Болевич С. Б.* // Терап. Арх. 1998. № 3. С. 54–57.
7. *Воложин А. И., Сашкина Т. И., Савченко З. И.* Иммуитет, типовые формы его нарушения и принципы коррекции. М., 1995. 100 с.
8. *Владимиров Ю. А.* // Соросовский общеобразовательный журнал. 2000. Т. 6. № 12. С. 13–19.
9. *Возрастная физиология.* Л.: Наука. 1975. 692 с. (Сер.: Руководство по физиологии).
10. Второе республиканское совещание по электроактивированным средам. Казань, 1987. 124 с.
11. *Гамалей И. А., Клюбин И. В.* // Цитология. 1996. Т. 38. № 12. С. 1233–1247.
12. *Гришина Т. И.* // Андрология и генитальная хирургия. 2000. № 2. С. 14.
13. *Гусев В. А.* // Успехи геронтол. 2000. Вып. 4. С. 41–49.
14. *Демченко Т. В., Дегтярева Э. П., Дворникова Т. С.* // Цитология. 1999. Т. 41. № 9. С. 767–768.
15. *Донцов В. И., Крутько В. Н., Подколзин А. А.* Фундаментальные механизмы геропротифилактики. М.: Биоинформсервис. 2002. 464 с.
16. *Донцов В. И.* // Физиология человека. 1998. Т. 24. № 1. С. 82–87.
17. *Донцов В. И., Подколзин А. А.* // Ежегодник Национального геронтологического центра. 2001. Вып. 4. С. 70–80.
18. *Зайцев В. Г.* // Вестник Волгоградской мед. акад. Волгоград. 1998. Вып. 4. С. 49–53.
19. *Зенков Н. К., Меньшикова Е. Б.* // Успехи современной биологии. 1993. Т. 113. № 3. С. 286–296.
20. *Каган В. Е., Орлов О. Н., Прилитоко Л. Л.* Итоги науки и техники. М.: ВИНТИ, 1986. Т. 18. 220 с. (Сер. Биофизика).
21. *Козлов Ю. А., Прокопенко В. Д., Иванова А. С.* Совр. проблемы аллергологии, клин. иммунологии и иммунофармакологии. М., 1997. С. 478.
22. *Кольтовер В. К.* // Успехи геронтологии. 2000. Вып. 4. С. 33–40.
23. *Коган А. Х.* // Вестник РАМН. 1999. № 2. С. 3–10.
24. *Кузменко Д. И.* // Вopr. мед. хим. 1999. № 1. С. 17–24.
25. *Кулинский В. И.* // Соросовский общеобразовательный журнал. 1999. № 1. С. 2–7.
26. *Лазорик М. И.* // Лабораторное дело. 1981. № 7. С. 441–442.
27. *Лю Б. Н.* // Успехи соврем. биологии. 2000. Т. 121. № 5. С. 488–501.
28. *Любина Л. В.* и др. Галавит в эксперименте и клинике. М., 1998. С. 33.
29. *Максименко А. В.* // Успехи современной биологии. 1993. Т. 113. Вып. 3. С. 351–365.
30. *Маянский А. Н., Маянский Д. Н.* Очерки о нейтрофиле и макрофаге. Новосибирск: Наука, 1983. 264 с.
31. *Меньшикова Е. Б., Зенков Н. Л.* // Успехи соврем. биол. 1977. Т. 117. № 2. С. 155–171.

32. *Осипов А. Н., Азизова О. А., Владимиров Ю. А.* // Успехи. биол. химии. 1990. Т. 31. С. 180–208.
33. *Передерий В. Г., Земсков А. М., Бычкова Н. Г.* и др. Иммунный статус и принципы его оценки и коррекции иммунных нарушений. Киев, 1995. 344 с.
34. *Подколзин А. А., Донцов В. И., Чернилевский В. Е., Мегреладзе А. Г., Мрикаева О. Ш., Жукова Е. А.* // Бюл. эксперим. биол. мед. 2001. Т. 130. № 1. С. 66–68.
35. *Подколзин А. А., Донцов В. И., Крутько В. Н., Мегреладзе А. Г., Прикаева О. М., Жукова Е. А.* // Клинич. геронтол. 2001. № 3–4. С. 50–58.
36. *Подколзин А. А., Хасанов Р. Ш.* Заявка на изобретение № 365284. 13 (121800) от 9.08.1983.
37. *Подколзин А. А., Мегреладзе А. Г., Донцов В. И., Арутюнов С. Д., Мрикаева О. М., Жукова Е. А.* Профилактика старения // Ежегодник Нац. геронт. центра. 2000. Вып. 3. С. 45–62.
38. *Прилуцкий В. И., Бахир В. М.* Электрохимически активированная вода: аномальные свойства, механизм биологического действия. М.: Медицина. 1997. 228 с.
39. *Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д.* Иммунология / Пер. с англ. М.: Мир. 2000. 592 с.
40. *Скулачев В. П.* // Соросовский общеобразовательный журнал. 1996. № 3. С. 1–8.
41. *Станулис А. И., Подколзин А. А., Мегреладзе А. Г., Леснов Д. Б.* Актуальные вопросы практической медицины: Сборник научных работ, посвященный памяти Виктора Михайловича Могучева. М., 2001. С. 178–180.
42. *Станулис А. И., Подколзин А. А., Мегреладзе А. Г., Леснов Д. Б., Израилев Р. Е.* Актуальные проблемы хирургии: Сборник научных работ к 60 летию со дня рождения профессора В. А. Пенина. М., 2001. С. 161–163.
43. *Haitov R. M., Pinegin B. V., Bootakov A. A., Andronova T. M.* Immunotherapy of Infectious. Ed. N. Masihi. Marsel Dekker, Inc. N. Y., Basel, Hong Kong. 1994. P. 205–211.
44. *Хансон К. П.* // Успехи геронтологии. 1999. Вып. 3. С. 103–109.
45. *Хохлов А. П., Калюжин О. В., Абидов М. Т.* Галавит в эксперименте и клинике. М., 1998. С. 32.
46. *Чекнеев С. Б.* // Вестник РАМН. 1999. № 2. С. 10–15.
47. *Bar-Or D., Winkler J. V.* // Free radic. biol. med. 2002. Vol. 32. № 2. P. 197–199.
48. *Barja G.* // Ageing res. rev. 2002. Vol. 1. № 3. P. 397–411.
49. *Beckman K. B., Ames B. N.* // J. biol. chem. 1997. Vol. 272. P. 19633–19636.
50. *Bone R. S.* // Chit. Care med. 1992. Vol. 20. P. 724–726.
51. *Box H. C., Dawidzik J. B., Budzinski E. E.* // Free radic. biol. med. 2001. Vol. 31. № 7. P. 856–868.
52. *Burbon R. H.* // New comp. biochem. 1994. Vol. 28. P. 155–185.
53. *Burlacu J. et al.* // Cell & tissue res. 2001. Vol. 306. № 3. P. 409–416.
54. *Chance B., Sies H., Boveris A.* // Physiol. rev. 1979. Vol. 59. P. 527–605.
55. *Cheeseman K. H., Slater T. F.* // Brit. Med. Bull. 1993. Vol. 49. P. 481–493.
56. *Cohen J.* // Proceeding of satellite symposium held March 26, 1995, in Vena, Austria, in conjunction with the 7th European Congress of Clinical Microbiology and Infections Diseases. 1995. P. 4–7.

57. *Comporti M.* // Free radic. biol. med. 2002. Vol. 32. № 7. P. 565–567.
58. *Cross A. R., Jones O. T. G.* // Biochem. biophys. acta. 1991. Vol. 1057. P. 281–298.
59. *Cutler R. G., Rodrigues H., World H. (Eds.)* Critical review of oxidative stress and aging: advances in basic science, diagnostic and intervention. Singapore: World scientific publishing Co, 2003. 1523 p.
60. *Dizdaroglu M.* // Free radic. biol. med. 2002. Vol. 32. № 8. P. 677.
61. *Duval C.* // Free radical biol. and med. 2003. Vol. 35. № 12. P. 1589–1598.
62. *Elliott S. J., Meszaros J. G., Schilling W. P.* // Free radical biol. med. 1992. Vol. 13. P. 635–650.
63. *Finkel T., Holbrook N. J.* // Nature. 2000. Vol. 408. № 6809. P. 239–247.
64. *Frindovich I.* // J. biol. chem. 1997. Vol. 272. P. 18515–18517.
65. *Guitterige J. M.* // Chem. biol. interact. 1994. Vol. 91. P. 133–140.
66. *Gottlieb E., Armour S. M.* // Cell death and differentiation. 2003. Vol. 10. P. 709–717.
67. *Grune T., Shringarpure R.* // J. gerontol. 2001. Vol. 56. № 11. P. B459–B467.
68. *Harman D.* // Ann. N. Y Acad. Sci. 1994. Vol. 717. P. 257–266.
69. *Harman D.* // J. Anti-Aging Medicine. 1999. Vol. 2. P. 15–36.
70. *Jaruga P., Jaruga B., Gackowski D., Olczak A., Halota W., Pawlowska M., Olinski R.* // Free radic. biol. med. 2002. Vol. 32. № 5. P. 414–420.
71. *Kinnula V. L., Soini Y.* // Antioxid. redox signal. 2002. Vol. 4. № 1. P. 27–34.
72. *Kitani K., Minami C. et al.* // Ann. N. J. Acad. sci. 2001. Vol. 928. P. 248–260.
73. *Klungland A., Rosewell I., Hollenbach S.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1999. Vol. 96. P. 13300–13305.
74. *Khodr B., Khalil Z.* // Free radic. biol. med. 2001. Vol. 30. № 1. P. 1–8.
75. *Langermans J. A. M., Hazenbos W. L. W., van Furth R.* // J. immunol. meth. 1994. Vol. 174. P. 185–194.
76. *Lauranzi V., Melino G., Savini M.* // European J. Cancer. 1994. Vol. 31. № 4. P. 463–466.
77. *Levine R. L.* // Exp. geront. 2001. Vol. 9. № 9. P. 1495–1502.
78. *McCord J. M.* Stress proteins in iflamation. L.: Richelien Press, 1990. P. 125–134.
79. *Mody N., Parhami F., Sarafian T. A., Demer L. L.* // Free radical biol. med. 2001. Vol. 31. № 4. P. 509–519.
80. *Nathan C. F., Silverstein S. O., Bruckner L. H., Cohn Z. A.* // J. exp. med. 1979. Vol. 149. P. 100–113.
81. *Ono T., Okada S.* // Exp. Geront. 1984. Vol. 19. P. 349–354.
82. *Orr W. C., Sohal R. S.* // Med. Hypotheses. 1980. Vol. 6. P. 249–268.
83. *Orrienis S., McConcey D. J., Nicotera P.* Oxy-radicals in molecular biology and pathology. N. Y: Alan R. Liss, 1988. P. 327–339.
84. *Ozaki Y., Ohashi T., Niwa Y.* // Inflammation. 1986. Vol. 10. P. 119–130.
85. *Pollack M., Leeuwenburgh C.* // J. gerontol. A. Biol. sci. and med. sci. 2001. Vol. 56. № 11. P. B475–B482.
86. *Reeder B. J., Wilson M. T.* // Free radic. biol. med. 2001. Vol. 30. № 11. P. 1311–1318.
87. *Sandhu S. K., Kaur G.* // Biogerontol. 2003. Vol. 4. № 1. P. 19–29.
88. *Sharma S., Sharma R.* // Indian J. exp. biol. 2001. Vol. 39. № 11. P. 1180–1183.
89. *Sohal R. S., Swenson I., Brunk U. T.* // Mech. Ageing Dev. 1990. Vol. 53. P. 209–215.

-
90. *Sohal R. S., Dubey A. M.* // Free radic. biol. med. 1994. Vol. 16. P. 621–626.
 91. *Tan S., Wood. M.* // J. neurochem. 1988. Vol. 71. № 1. P. 95–105.
 92. *Ujihara M, Nomura K, Yamada O, Shibata N, Kobayashi M, Takano K.* // Free radic. biol. med. 2001. Vol. 31. № 11. P. 1396–1404.
 93. *Valgimigli L, Pedulli GF, Paolini M.* // Free radic. biol. med. 2001. Vol. 31. № 6. P. 708–716.
 94. *Winrow V. R., Winyard P. G., Morris C. J., Blake D. R.* // Brit. med. bull. 1993. Vol. 49. P. 506–522.
 95. *Xin M. G., Zhang L. Block E. R., Patel J. M.* // Mech. ageing dev. 2003. Vol. 124. № 8–9. P. 911–919.
 96. *Zhang J.* // Mech. of ageing and develop. 2002. Vol. 123. P. 245–260.
 97. *Zhang J.* // Amer. J. Pathol. 1999. Vol. 154. P. 1423–1429.