

## ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ МОДИФИКАЦИЯ МОНОАМИНОКСИДАЗ

А.Е.МЕДВЕДЕВ, К.Ф.ТИПТОН

НИИ биомедицинской химии РАМН, Погодинская ул.10, Москва, 119832 Россия

Тринити Колледж, Дублин, 2, Ирландия

Окислительная модификация моноаминоксидаз (МАО), сопровождающаяся изменением их субстратной специфичности и чувствительности к специфическим ингибиторам, была открыта профессором В.З.Горкиным более 30 лет назад. Механизм этого феномена включает окисление SH групп фермента. Окислительная модификация мембраносвязанных моноаминоксидаз сопровождается также увеличением чувствительности к ограниченному протеолизу. Изменение каталитических свойств МАО обнаружено при многих патологических состояниях, характеризующихся стимуляцией процессов перекисного окисления липидов, однако выяснение действительной биологической роли этого феномена требует дальнейших исследований.

**Ключевые слова:** моноаминоксидаза, окислительная модификация, каталитические свойства, субстратная специфичность, биологическая роль

### Феномен и механизм окислительной модификации (трансформации) моноаминоксидаз.

Феномен качественного изменения субстратной специфичности МАО был обнаружен в лаборатории профессора В.З.Горкина в середине 60-х годов во время изучения эффектов ненасыщенных жирных кислот на активность этого фермента [1]. По мере увеличения длительности инкубации митохондрий с олеиновой кислотой происходило увеличение торможения активности МАО [2]. Между содержанием продуктов перекисного окисления липидов в препаратах ненасыщенных жирных кислот и эффективностью торможения МАО была выявлена корреляция [3]. Преинкубация митохондрий с окисленной олеиновой кислотой (ООК) вызывала более сильное торможение активности МАО. Это сопровождалось снижением содержания SH-групп в препарате митохондрий. Восстановленный глутатион предотвращал торможение МАО ООК [2, 3]. Эти и другие данные позволили предположить, что снижение активности МАО при инкубации с ООК обусловлено окислением SH-групп, локализованных вне активного центра [1, 4].

Торможение ферментативной активности сопровождалось снижением чувствительности МАО к селективным ингибиторам (паргилину, транилципрамину) и появлением качественно новых реакций дезаминирования азотсодержащих соединений, не свойственных МАО [4-7]. Эти "новые" реакции дезаминирования (см. Таблицу 1) были менее чувствительны к селективным ингибиторам МАО. Параллельное снижение активности с обычными субстратами и уменьшение чувствительности к ингибиторам может быть обусловлена общей причиной, поскольку и паргилин и транилципрамин являются механизм-активируемыми ингибиторами моноаминоксидазы, превращение которых в реактивные вещества, необратимо ингибирующие фермент, зависит от каталитической активности [8]. Карбонильные же реагенты (изониазид, гидроксиламин) эффективно тормозили эти новые дезаминазные активности.

Таблица 1. Некоторые азотистые соединения дезаминируемые модифицированной MAO

β-аланин
аденозинмонофосфат
ГАМК
глюкозамин
гистамин
кадаверин
L-лизин
путресцин
спермин

В дальнейшем изменение каталитических свойств MAO было продемонстрировано при стимуляции ПОЛ *in vitro* [9,10], при ферментативной оксигенации мембран митохондрий [11], при патологических состояниях организма, сопровождающихся накоплением продуктов ПОЛ [10,12,13]. Качественное изменение субстратной специфичности MAO было продемонстрировано в разных лабораториях с использованием независимых методов регистрации ферментативной активности MAO: а) по регистрации освобождения аммиака [9,10]; б) по накоплению альдегида (в случае субстрата <sup>14</sup>C-глюкозамина [14, 15]; в) полярографическим методом по потреблению кислорода [11]. Кинетика дезаминирования серотонина и глюкозамина при стимуляции ПОЛ свидетельствует о том, что сродство MAO (A) к индуцированному субстрату существенно ниже, чем к физиологическому субстрату MAO A (серотонину) [16]. При этом глюкозамин (но не глюкоза) действовал как неконкурентный ингибитор окисления серотонина. Отсутствие чисто конкурентных взаимоотношений между этими соединениями предполагает вовлечение дополнительного участка молекулы MAO во взаимодействие с "индуцированными" субстратами [16].

По данным экспериментов с высокоочищенными MAO [1, 9, 12, 13, 17-20], молекулярной основой изменения субстратной специфичности MAO является окисление SH-групп. В условиях защиты активного центра фермента насыщающими концентрациями субстрата (3,2 мМ тирамин) инкубация MAO, очищенной из печени быка, с ООК и последующим диализом приводила к уменьшению числа SH-групп с 8 до 3 [1,9,17,]. При этом происходило существенное снижение скорости дезаминирования тирамина и нитрофенилэтиламина (на 80-90%) и появление реакций дезаминирования азотсодержащих соединений, которые субстратами MAO не являются. Окисление 9-11 (из 15, рассчитанных на фермент 100 кДа) SH-групп, которые определялись в очищенной из митохондрий мозга быка MAO, кислородом воздуха или перекисью водорода также вызывало снижение скоростей дезаминирования моноаминов и появление гистамин- и ГАМК-дезаминазных активностей [9, 19-20]. Добавление восстановленного глутатиона или дитиотрейтола нормализовывало субстратную специфичность MAO.

Сопоставление каталитических свойств MAO, модифицированных в мембраносвязанном и высокоочищенном состояниях, выявило ряд различий, наиболее принципиальные из которых заключаются в следующем: (а) при изменении субстратной специфичности MAO *in vivo* или *in vitro* (в мембраносвязанном состоянии) "индуцированные" активности как правило сопоставимы с активностью интактного фермента, измеренной с физиологическим субстратом [14-16,21]; (б) "индуцированные" после очистки фермента активности MAO составляют не более 5-7 % от исходной [1, 17, 18];

(в) модификация каталитических свойств обнаружена у MAO, очищенных из тканей млекопитающих, которые содержат как обе формы фермента, так и преимущественно MAO B [17-20], а по данным ингибиторного анализа *in vivo* или *in vitro* изменение субстратной специфичности мембраносвязанных MAO предупреждают селективные ингибиторы MAO A [12-13, 22-24].

Это свидетельствовало в пользу важной роли самой мембраны в контроле и активности, и субстратной специфичности MAO. Как оказалось, стимуляция ПОЛ в мембранах митохондрий вызывает не только снижение активности MAO A и B, сопровождающееся появлением качественно новых реакций дезаминирования, которые составляют 40% от скорости дезаминирования серотонина в контроле (Табл. 2) [16]. Стимуляция ПОЛ помимо изменения каталитических свойств увеличивает протеолитическую инактивацию MAO. Чувствительность модифицированной MAO A с глюкозамином в качестве субстрата к протеолизу значительно выше, чем активности MAO A

Таблица 2 Влияние индукторов ПОЛ на накопление малонового диальдегида и дезаминирование аминов при инкубации с митохондриями печени крысы

Добавки к среде	Содержание МДА	Дезаминирование Серотонина	Дезаминирование Глюкозамина	Дезаминирование ФЭА
Нет	100 ± 4	100 ± 6	0	100 ± 7
N-ЭМ	100 ± 1	73 ± 4	0	67 ± 5
Fe <sup>2+</sup> + аскорбат	243 ± 9	72 ± 6	39 ± 7	84 ± 9
Fe <sup>2+</sup> + аскорбат + ДТТ	174 ± 10	99 ± 5	2 ± 1	122 ± 6
N-ЭМ + Fe <sup>2+</sup> + аскорбат	258 ± 18	76 ± 3	0	51 ± 3

Результаты представлены в виде % по отношению к контрольным пробам, инкубированным без добавок. Дезаминирование глюкозамина выражено в виде % по отношению к дезаминированию серотонина в контрольных пробах. Условия эксперимента подробно описаны в [16].

и B, измеряемые соответственно с серотонином и ФЭА (Табл. 3). Присутствие дитиотрейтола мало влияет на выраженность ПОЛ (во всяком случае на накопление малонового диальдегида), но полностью предупреждает ПОЛ-зависимое изменение каталитических свойств MAO (Табл. 2). 0,2 мМ N-этилмаленид (N-ЭМ) ингибирует активность MAO A и B на 25-30%. Последующая стимуляция ПОЛ индуцирует дополнительное снижение только активности MAO B, при этом появления глюкоз-аминдезаминазной активности не происходит. Предварительная обработка митохондрий N-ЭМ или добавление ДТТ вместе с индукторами ПОЛ предупреждала появление глюкозаминдезаминазной активности, но и снижала (примерно в 1,2) ПОЛ-зависимое увеличение чувствительности к протеолитической инактивации MAO A (Табл. 3). В этих условиях эффект трипсина на MAO B либо не изменялся (ДТТ), либо был несколько увеличен (N-ЭМ).

Поскольку MAO является интегральным белком внешней мембраны митохондрий, его контакт с трипсином может происходить, главным образом, на границе раздела водной и мембраной фаз (Рис.1). Увеличение протеолитической инактивации, очевидно, отражает увеличение таких контактов между трипсином и MAO. С учетом более выраженной инактивации дезаминирования глюкозамина и неконкурентном торможении им дезаминирования серотонина, это может означать, что ПОЛ, способствуя окислению



Таблица 3 Влияние ПОЛ на чувствительность MAO к трипсинолизу

Условия опыта	Остаточная активность (%) после инкубации с трипсином			
	MAO A		MAO B	
	50мкг/мл	100 мкг/мл	50мкг/мл	100 мкг/мл
Контроль	96±7	87±3	105±11	88±2
ПОЛ	64±6	54±1	65±3	56±3
ПОЛ <sup>+</sup>	13±1	8±5	-	-
N-ЭМ	62±4	67±3	-	-
N-ЭМ, ПОЛ	65±2	59±3	51±2	50±3
ПОЛ+ДТТ	77±2	67±6*	73±7	60±12

Результаты представлены в виде % по отношению к контрольным пробам, инкубированным без добавок. После преинкубации с 0,2 мМ N-этилмалеимидом, митохондрии пересаждали, промывали в фосфатном буфере и инкубировали с Fe (10 мкМ) и аскорбатом (0,5 мМ). 1 мМ дитиотрейтол (ДТТ) добавляли в среду инкубации вместе с индукторами ПОЛ

SH-групп, приводит к появлению такого конформационного (трипсинчувствительного) состояния MAO A в мембране, при котором становится возможным взаимодействие фермента с "потенциальными" субстратами. Блокада SH-групп (или их восстановление) обеспечивает трипсинрезистентное состояние MAO A в мембране (даже в условиях стимуляции ПОЛ), при котором, очевидно, взаимодействие фермента с "потенциальным" субстратом не происходит.

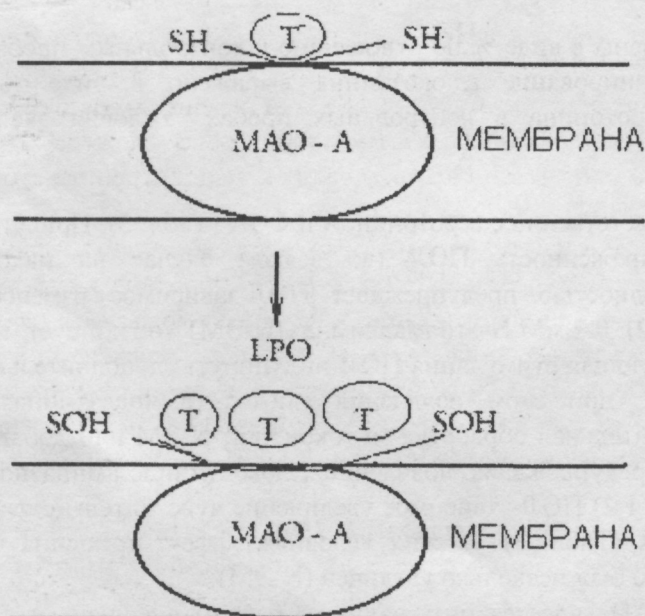


Рис. 1. Возможная взаимосвязь окисления SH-групп и протеолитической инактивации MAO



### Модифицирование каталитических свойств моноаминоксидаз *in vivo*.

Качественное изменение каталитических свойств МАО печени обнаружено у животных опухоленосителей [2]. В печени мышей по мере развития у них асцитной карциномы Эрлиха [25] обнаружено постепенное снижение скорости дезаминирования тирамина и серотонина при одновременном ускорении дезаминирования АМФ и появления путресциндезаминазной активности. Эти явления сопровождаются накоплением в печени животных-опухоленосителей липидных перекисей, содержание которых возрастало по сравнению с нормой в 14 раз. Введение мышам-опухоленосителям антиоксиданта альфа-токоферола подавляло накопление липидных перекисей и частично устраняло нарушение субстратной специфичности МАО. Введение мышам паргилина (100 мг/кг) перед имплантацией опухолевых клеток, а затем каждые 24 часа в течение 7-8 дней полностью предотвращало появление свойства дезаминировать путресцин. При этом состояние мышей-опухоленосителей не улучшалось, как не изменялась и продолжительность жизни этих животных [9].

После однократного общего облучения крыс в печени происходило постепенное снижение активности МАО с физиологическими субстратами [26] при одновременном нарастании кадавериндезаминазной активности, которая у здоровых животных отсутствовала. Введение ООК, которое вызывает развитие окислительного стресса в органах и тканях [27], также сопровождалось нарушением реакций дезаминирования, наблюдаемым при модифицировании каталитических свойств МАО. Предварительное введение ипрониазида тормозило активность МАО с физиологическими субстратами и предупреждало появление гистамин-, путресцин- и L-лизин-дезаминазных активностей [28]. Модифицирование каталитических свойств МАО было обнаружено в печени крыс после семидневного курса инъекций этанола. В этих же условиях отмечено увеличение содержания продуктов перекисного окисления липидов [29]. Появление качественно новых реакций дезаминирования, катализируемых модифицированной МАО А были обнаружены и при острой алкогольной интоксикации [30]. При хронической алкогольной интоксикации животных эти изменения не столь выражены [31]. Такое изменение каталитических свойств МАО согласуется с представлениями о том, что именно при острой алкогольной интоксикации происходит стимуляция ПОЛ в печени, механизм же повреждения этого органа при хронической алкоголизации животных более сложен [27]. Снижение активности МАО А и В было более заметно при насыщающих концентрациях субстратов соответственно серотонина и фенилэтиламина [32].

Увеличение чувствительности МАО А к протеолизу свидетельствует в пользу существенного вклада процессов ПОЛ в модифицирование каталитических свойств этого фермента при алкогольной интоксикации. Наиболее выраженная (сопоставимая с эффектом ПОЛ) протеолитическая инактивация МАО А печени отмечена при острой алкоголизации. При хронической алкоголизации изменение чувствительности к трипсину было выражено в меньшей степени. В отличие от стимуляции ПОЛ *in vitro*, острая и хроническая алкоголизация животных совершенно не оказывали никакого влияния на чувствительность митохондриальной МАО В к трипсинолизу [31].

Введение низких доз параквата (1 мг/кг) в течение 10 дней оказывает выраженное влияние на дезаминирование азотсодержащих соединений при инкубации с митохондриями мозга и легких крыс [33-34]. Помимо некоторого (на 17-40%) снижения скорости дезаминирования физиологических субстратов МАО (серотонина, триптамина, тирамина) происходило выраженное увеличение (или появление) качественно новых реакций дезаминирования глюкозамина, ГАМК, путресцина и лизина, свойственных модифицированной МАО (А). В этих органах также отмечено увеличение продуктов ПОЛ.

Зведение вместе с паракватом восстановителей тиосульфата и аскорбата или антиоксиданта цилудина не только нормализовало реакции дезаминирования в митохондриях органов-лишенной (легкие, мозг), но и уменьшало смертность животных при краткосрочном воздействии высокой дозы параквата [33-34].

Модифицирование каталитических свойств МАО было обнаружено при интоксикации кислородом, сопровождавшимся развитием судорог [35-36]. Предварительное зведение животным хлоргидина тормозило МАО А и предотвращало появление качественно новых реакций дезаминирования и замедляло развитие судорог, повышая выживаемость животных при гипероксии [21]. Модифицирование каталитических свойств МАО было обнаружено не только при гипероксии, но также при гипоксии и холодовом стрессе [37]. При этом величины  $K_m$  для серотонина увеличивались более чем в два раза по сравнению с МАО контрольных животных.

Аудиогенный судорожный припадок у крыс Крушинского-Молодкиной (КМ) характеризуется накоплением продуктов ПОЛ в синапсосах и несинаптических митохондриях больших полушарий мозга и низкой активностью МАО А (субстрат: серотонин) и МАО В (субстрат: ФЭА) [14-15]. Соотношение скоростей дезаминирования насыщающих концентраций ГАМК:серотонин и глюкозамин: серотонин, отражающее особенности субстратной специфичности МАО А, возрастает в синапсосах от 0 и 0,01 до 2,62 и 1,08 соответственно, а в митохондриях от 0,06 и 0,07 до 2,10 и 1,03 соответственно.

Сопоставление кинетики дезаминирования ГАМК и серотонина, катализируемого модифицированной МАО А митохондрий мозга крыс-эпилептиков, выявило более высокое сродство фермента к серотонину (каж.  $K_m = 0,33$  мМ), чем к ГАМК (каж.  $K_m = 1,67$  мМ) [38].

Активность МАО А и В в митохондриях мозга крыс Вистар устойчива к ограниченному протеолизу [38]. Инкубация с трипсином митохондрий мозга крыс КМ, выделенных после аудиогенного припадка максимальной интенсивности, сопровождается более выраженной инактивацией МАО по сравнению с контролем. При использовании глюкозамина в качестве субстрата активность модифицированной МАО (А) после обработки митохондрий трипсином оказывается сниженной в еще большей мере, чем при дезаминировании физиологического субстрата серотонина. Предварительное введение крысам селективного ингибитора МАО А пиразидола снижает интенсивность аудиогенных эпилептиформных судорог и удлиняет латентный период до их возникновения [39]. Оптимальная доза препарата предотвращает появление ГАМК-деаминазной активности и усиливает торможение серотонин-деаминазной активности МАО А при аудиогенной провокации эпилептиформного припадка [39].

Таким образом, увеличение чувствительности к трипсинолизу является общим свойством модифицированных МАО-А независимо от фактора, провоцирующего это явление. Во всяком случае развитие патохимических сдвигов в головном мозге кроликов при черепно-мозговой травме также сопровождается помимо стимуляции процессов ПОЛ [40] модифицированием каталитических свойств МАО [41] и увеличением их чувствительности к трипсинолизу [38]. Таким образом, приведенные результаты согласуются с рассмотренными выше данными *in vitro* о том, что именно трипсинчувствительное конформационное состояние МАО А обуславливает появление качественно новых реакций дезаминирования. С механистической точки зрения, изменение чувствительности к ингибиторам, которое сопровождает процесс качественного изменения каталитических свойств МАО, является особенно интересным свойством. Как отмечалось выше, и паргидин, и транилципрамин, так же как и гидразиновые производные, являются механизм-активируемыми ингибиторами МАО, чья ингибиторная активность зависит от субстрат-связывающей аффинности фермента,

а также от ферментативного превращения, необходимого для формирования реактивных видов, которые собственно и образуют ингибиторный аддукт с ферментом [8, 42]. Таким образом, можно ожидать, что снижение чувствительности к этим высокоселективным ингибиторам будет сопровождать снижение активности фермента с нормальными субстратами. Эти ингибиторы образуют ковалентные аддукты с различными функциональными группами МАО [8]. Ацетиленовые ингибиторы хлоргилин, депренил и паргилин, реагируют с ковалентно связанным флавином моноаминоксидазы, в то время как реактивные соединения, образующиеся из производных циклопропиламина и гидразина (транилципрамин и ипрониазид, соответственно), могут связываться с несколькими группами фермента, включая SH-группы. Вовлечение последних в механизм необратимого ингибирования может быть другим фактором, уменьшающим чувствительность к ингибиторам при окислительной модификации. Развитие чувствительности к соединениям, которые реагируют с карбонильными группами, менее понятно. Ингибирование такими веществами является характеристическим свойством других аминоксидаз - семейства семикарбазид-чувствительной аминоксидазы (SSAO, EC 1.4.3.6). Содержащий карбонильную группу кофактор этих медь-содержащих ферментов был идентифицирован как остаток 3,4,6-тригидроксифенилаланина (ТОРА, trioxyphenylalanine), образующийся при окислении специфического тирозинового остатка в ферменте, которое может катализировать фермент-связанная медь [43]. Нативная моноаминоксидаза не тормозится реагентами на карбонильную группу и таким образом, окисление должно либо экспонировать реактивную группу, которая обычно недоступна, или же оно (окисление) приводит к образованию такой группы. Интересно было бы исследовать возможность образования такой группы как ТОРА в ходе окислительной модификации фермента. Высокоочищенные препараты фермента не содержат ионов металлов, которые могли бы быть необходимы в качестве катализаторов такого процесса, но железо является персистирующей примесью, которую довольно сложно удалить [44], и каталитическая роль такой примеси могли бы подчеркнуть наблюдаемые различия между ответами очищенных и грубых (мембраносвязанных) препаратов фермента на окислительную модификацию.

**Возможное биологическое значение: сложность интерпретации данных *in vivo*.**

Все вышеизложенное позволяет предположить, что изменение каталитических свойств моноаминоксидазы может быть способом уяснения окислительного стресса, который ассоциируется с различными патологическими состояниями, нарушающими нейромедиаторные процессы в центральной нервной системе [см. 9,15,45,46]. Предварительная обработка ингибиторами, предупреждающими модификацию каталитических свойств моноаминоксидаз, обычно усиливает положительные терапевтические эффекты [9]. Антиоксиданты, которые могут нормализовать процесс ПОЛ и обращать или предупреждать изменения, ведущие к изменениям субстратной специфичности моноаминоксидазы, часто улучшают состояние экспериментальных животных [9].

Поскольку реакция, катализируемая моноаминоксидазой, приводит к образованию перекиси водорода, было предположено, что это может вносить вклад в окислительный стресс при ряде патологических состояний [47]. В этом случае ингибирование моноаминоксидазы в условиях окислительного стресса можно рассматривать как защитный механизм, уменьшающий возможный источник последующего окислительного повреждения. Такое ингибирование могло бы иметь также дофаминсохраняющее действие, которое могло бы ослабить симптомы болезни Паркинсона [47]. Хотя возможные последствия увеличения других субстратов моноаминоксидазы нуждаются в оценке, известно, что необходимо существенное ингибирование фермента, предшествующее явным поведенческим эффектам в



ответ на введенный триптамин [48]. Проблема в уяснении значимости измененной специфичности моноаминоксидазы заключается в том, что до сих пор нет доказательств того, что модифицированный фермент играет важную роль в метаболизме "новых" субстратов *in vivo*. Неясно также, является ли нормализация субстратной специфичности моноаминоксидазы при лечении антиоксидантами средством патогенетической терапии, или же это отражает вторичные события, наблюдаемые после нормализации процессов ПОЛ в организме.

В настоящее время данные о влиянии ингибиторов МАО на содержание потенциальных субстратов модифицированной МАО в мозге немногочисленны. Курсовое введение мышам некоторых ингибиторов (ипрониазид, пиразидол) помимо торможения серотониндезаминазной активности в митохондриях мозга, вызывало появление гистаминдезаминазной активности, свойственной модифицированной МАО [23, 24, 49]. У этих животных уровень гистамина в мозге был снижен. Введение пиразидола мышам с глиальной опухолью не только снижало уровень гистамина, но и уменьшало рост опухоли. Аналог пиразидола, который тормозил активность МАО без модифицирования каталитических свойств, на рост опухоли не влиял [49]. В опытах *in vitro*, были получены данные в пользу МАО (А)-зависимого дегидрирования пиразидола, которое сопровождалось появлением гистамин-дезаминазной активности, свойственной модифицированной МАО [50].

Если допустить, что мишенью пиразидола является только МАО, то эти результаты однозначно свидетельствуют в пользу того, что гистамин - субстрат модифицированной МАО. Правда, с учетом данных о том, что метаболизм гистамина в мозге происходит по пути его метилирования до N-теле-метилгистамина, который затем окисляется МАО В [51], последствия для метаболизма гистамина при ингибировании нормальной активности МАО и появление гистаминазной активности не могут быть уяснены без дальнейших экспериментов. В этой связи следует отметить, что введение необратимого ингибитора моноаминоксидазы паргиллина может также влиять на содержание гистамина в мозге [53]. Кроме того, не было исследовано, является ли N-теле-метилгистамин, также как и гистамин, субстратом модифицированной моноаминоксидазы. Нельзя исключить и других механизмов реализации пиразидол-зависимого уменьшения содержания гистамина в мозге (см. [39, 53, 54]).

Введение гидразинового антидепрессанта фенелзина - ингибитора моноаминоксидаз А и В - крысам сопровождается увеличением уровня ГАМК в мозге [55]. Ингибирование МАО предварительным введением транилципрамина предупреждало фенелзин-зависимое увеличение ГАМК в мозге [56]. Эти результаты могут свидетельствовать в пользу того, что при физиологических условиях моноаминоксидаза может играть роль в метаболизме ГАМК. Селективный ингибитор МАО В депренил в дозе, вызывающей селективное торможение только этой формы МАО, также предупреждал фенелзин-зависимое увеличение ГАМК. Хлоргилин же в дозе, вызывающей избирательное торможение МАО А был менее эффективен. Это предполагает, что для фенелзин-зависимого повышения уровня ГАМК более важна МАО В, чем МАО А, а по данным ингибиторного анализа модифицирование каталитических свойств *in vivo* происходит отмечается только у МАО А [24].

Другая интерпретация возможного значения окислительной модификации МАО возникает, если сопоставить модификацию каталитических свойств МАО под действием ретикулоцитарной липоксигеназы [11] и увеличение чувствительности модифицированной МАО к протеолизу. Оксигенация митохондриальных мембран, катализируемая липоксигеназой, является важным этапом на пути превращения ретикулоцитов в зрелые эритроциты [57, 58]. Этот процесс сопровождается полной деградацией митохондрий (и других субклеточных органелл) [59], и существенная роль в нем принадлежит различным

протеолитическим системам [60-63]. Если увеличение протеолитической инактивации и изменение каталитических свойств МАО действительно взаимосвязаны, то нельзя исключить, что окислительная модификация МАО может служить своеобразным сигналом для последующей утилизации этого фермента тканевыми протеазами. Ответы на эти вопросы требуют дальнейших исследований.

**Заключение.** С момента первого сообщения В.З.Горкина об изменении каталитических свойств МАО прошло более 30 лет. Подробно изучен механизм модифицирования высокоочищенных препаратов МАО. Накоплен громадный материал, доказывающий существование этого феномена при различных (патологических) состояниях организма. Работы В.З.Горкина и его сотрудников стимулировали интерес к изучению механизмов изменения субстратной специфичности других ферментов [64]. Но тем не менее история модифицирования каталитических свойств МАО продолжает ставить новые вопросы, которые ждут дальнейшего экспериментального разъяснения.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Gorkin V.Z. Adv. Biochem. Pharmacol. 1972, V. 5, 55-65.
2. Gorkin V.Z. Adv. Pharmacol. 1973, V. 11, 1-50.
3. Рапава Э.А., Кляшторин Л.Б., Горкин В.З. Биохимия 1966, Т. 31, 1216-1224.
4. Gorkin V.Z. in Monoamine Oxidase and its Inhibition (G.E.W. Wolstenholm, J.Knight eds.), pp.61-81, Elsevier, Amsterdam.
5. Горкин В.З., Акопян Ж.И., Вережкина И.В., Груднева Л.И., Стесина Л.Н. Биохимия, 1970, Т. 35, 140-151.
6. Gorkin V.Z., Tatyannko L.V. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1967, V. 27, 613-617.
7. Горкин В.З., Татьянаенко Л.В., Москвитина Т.А. Биохимия, 1968, Т.33, 393-402.
8. O'Brien E.N., Tipton K.F. in: Monoamine Oxidase Inhibitors in Neurological Diseases (Lieberman A., Olanow C.W., Youdim M.B.H., Tipton K.F., eds.), 1994 Marcel Dekker, New York, pp. 31-76.
9. Горкин В.З. Аминоксидазы и их значение в медицине, 1981, Медицина, Москва.
10. Антипов А.В., Тюрин В.А., Аврова Н.Ф., Хованских А.Е., Каган В.Е. Бюлл. экспер. биол. мед. 1989, N2, 169-171.
11. Wiesner R., Kasuschke A., Kuhn H., Anton M., Schewe T. Biochim. Biophys. Acta 1989, V. 986, 11-17.
12. Gorkin V.Z. in Monoamine Oxidase: Structure, Function and Altered Functions (Singer T. P., Von Korff R.W., Murphy D.L., eds.) 1979, pp.347-350, Academic Press, New York
13. Gorkin V.Z. in Structure and Functions of Amine Oxidases (Mondovi B., ed.) 1985, pp. 205-208.
14. Райгородская Д.И., Медведев А.Е., Горкин В.З., Федотова И.Б., Семиохина А.Ф. Вopr. мед. хим., 1991, Т. 37, N2, 46-49.
15. Medvedev A.E., Rajgorodskaya D.I., Gorkin V.Z., Fedotova I.B., Semiokhina A.F. Mol. Chem. Neuropathol. 1992, V. 16, 187-201.
16. Medvedev A.E., Kirkel A.Z., Kamyshanskaya N.S., Gorkin V.Z. Int. J. Biochem. 1993, V. 25, 1791-1799.
17. Akopyan Zh.I., Stesina L.N., Gorkin V.Z. J. Biol. Chem. 1971, V. 246, 4610-4618.
18. Veryovkina I.V., Abdel Samed M.M., Gorkin V.Z. Biochim. Biophys. Acta, 1972, V. 258, 56-70.

19. Moskvitina T.A., Kamyshanskaya N.S., Kaverina L.P., Gorkin V.Z. J. Neurochem. 1976, V. 26, 209-210.
20. Москвитина Т.А., Камышанская Н.С., Каверина Л.П., Горкин В.З. Вопр. мед. химии, 1976, Т.23, 352-358.
21. Гаришвили Т.Г., Горкин В.З. Изв. Акад. Наук Груз. ССР 1978, Т.89, 185-188.
22. Goroshinskaya I.A., Bronovitskaya Z.G., Gorkin V.Z. Comm. Psychopharmacol., 1977, V.1, 39-47.
23. Baumanis E.A., Kalnina I.E., Kamika M.E., Mashkovsky M.D., Gorkin V.Z. Agents and Actions 1981, V.11, 685-692.
24. Gorkin V.Z. in Neuropsychopharmacology'85 (Kelemen K., Magyar K., Vizi E.S, eds) pp.9-14, Akademiai Kiado, Budapest.
25. Хужамбердиев М., Романова Л.А., Нейфах Е.А., Горкин В.З. Вопр. мед. химии 1973, 19, 415-422.
26. Акопян Ж.И., Горкин В.З., Кудряшов Ю.В., Семина О.В. Радиобиология, 1970, Т. 10, 826-831.
27. Halliwell B., Gutteridge J. Free Radicals in Biology and Medicine 1989, Clarendon Press, Oxford.
28. Abdel Samed M.M., Akopyan Zh.I., Veryovkina I.V., Kulygina A.A., Gorkin V.Z. Biochem. Pharmacol. 1971, V. 20, 2571-2577.
29. Исаханян Г.Д., Горкин В.З. Вопр. мед. химии 1976, Т. 22, 76-81.
30. Овчинникова Л.Н., Горкин В.З., Анохина И.П. Вопр. мед. химии 1989, Т. 35, N2, 124-128.
31. Medvedev A.E., Kinkel A.Z., Kamyshanskaya N.S., Gorkin V.Z., Anokhina I.P. Alcohol and Alcoholism 1995, V. 30, 729-735.
32. Медведев А.Е. Вопр. наркологии 1994, N4, 75-80.
33. Аманов К., Мамадиев М., Хужамбердиев М.А., Горкин В.З. Вопр. мед. химии 1994, Т.40 N4, 22-28.
34. Gorkin V., Amanov K., Mamadiev M., Medvedev A.E., Khuzhamberdiev M. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 1994, 26, 534-539.
35. Горошинская И.А., Броновицкая З.Г. Вопр. мед. химии 1976, Т.22, 558-562.
36. Броновицкая З.Г., Горошинская И.А. Укр. биохим. ж., 1976, 48, 295-299.
37. Горошинская И.А. Бюлл. экспер. биол. мед., 1985, N6, 672-674.
38. Medvedev A.E., Gorkin V.Z., Int. J. Devel. Neurosci 1994, V.12, 151-155.
39. Medvedev A., Gorkin V., Shvedov V., Fedotova O., Fedotova I., Semiokhina A. Drug. Invest., 1992, V.4, 501-507.
40. Демчук М.Л., Медведев А.Е., Промыслов М.Ш., Горкин В.З. Вопр. мед. химии, 1993, Т. 39, N2, 23-25.
41. Акопян А.С., Промыслов М.Ш. Вопр. мед. химии 1984, 30, N1, 75-77.
42. Fowler C.J., Mantle T.J., Tipton K.F. Biochem. Pharmacol. 1982, 31, 3555-3561.
43. Klinmann J.P., Mu D. Ann. Rev. Biochem. 1994, 63, 299-344.
44. Weyler W., Salah J.I. Arch. Biochem. Biophys. 1981, 212, 147-153.
45. Крыжановский Г.Н. Ж. Нейропатол. и психиатр. им. Корсакова 1990, Т.90, 3-10.
46. Крыжановский Г.Н. Патол. физиол. экспер. тер. 1990, N2, 3-8.
47. Tipton K.F. Clin. Pharmacol. Ther. 1994, 56, 781-796.
48. Green A.R., Youdim M.B.H. Br. J. Pharmacol. 1975, 55, 415-422.
49. Бауманис Э.А., Горкин В.З., Лисянский Н.И., Кожухов А.Н. Патол. физиол. экспер. тер. 1990, N4, 32-35.



50. Бауманис Э.А., Бирска И.А., Рейхман Г.О., Кируле И.Э., Шведов В.И., Горкин В.З., *Вопр. мед. химии* 1987, Т. 33, 90-96.
51. Waldmeier P., Feldtrauer J.-J., Maitre L. *J. Neurochem.* 1977, V. 29, 785-790.
52. Машковский М.Д., Горкин В.З., Веревкина И.В., Аснина В.В., Тутикина С.М. *Бюлл. Экспер. биол. мед.*, 1981, N2, 169-171.
53. Schwartz J.C., Arrang J.M., Carbag M., Pollard H., Rnat M. *Physiol. Rev.*, 1991, V. 71, 1-51.
54. Hough L.B., Khandelwal J.K., Green J.P. *Biochem. Pharmacol.*, 1982, V.31, 4074-4076.
55. Baker G., Wong J.T.F., Yeung J.M., Coutts R. *J. Affect. Disord.*, 1991, V. 21, 207-211.
56. Todd K.D., Baker G.B. *J. Affect. Disord.* 1995, V. 35, 125-129.
57. Rapoport R.W., Schewe T. *Biochim. Biophys. Acta*, 1986, V. 864, 471-495.
58. Kuhn H., Brash A.R. *J. Biol. Chem.*, 1990, V. 265, 1454-1458.
59. Rapoport S.M. *The Reticulocyte*, CRC Press, Boca Raton Florida, 1986.
60. Eltinnger J.D., Goldberg A.L. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, 1977, V.74, 54-58.
61. Hershko A., Chiechanover A., Rose I.A. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, 1979, V.76, 3107-3110.
62. Tanaka K., Waxman L., Goldberg A.L. *J. Cell Biol.* 1983, V. 96, 1580-1585.
63. Fagan J.M., Waxman L., Goldberg A.L. *J. Biol. Chem.* 1986, V. 261, 5705-5713.
64. Kaiser E.T., Lawrence D.S., Rokita S.E. *Ann. Rev. Biochem.*, 1985, V. 54, 565-595.

## OXIDATE MODIFICATION OF MONOAMINE OXIDASE ACTIVITIES

A.E. MEDVEDEV, K.F. TIPTON.

Institute of Biomedical Chemistry, Pogodinskay str., 10, Moscow, 119832 Russia, fax: (095) 245-0857  
University of Dublin, Trinity College, Dublin 2, Ireland; fax: (353) (1) 677-24-00

Oxidative modification of monoamine oxidases (MAO) accompanied by alteration of their substrate specificity and sensitivity to specific inhibitors was discovered by Professor V.Z.Gorkin more than 30 years ago. The mechanism of this phenomenon includes oxidation of SH groups of the enzyme. Oxidative modification of MAO is also accompanied by increased sensitivity to limited proteolysis. Modification of MAO was found in many pathological states, however, elucidation of biological role of this phenomenon requires further investigations.

**Key words:** monoamine oxidase, oxidative modification, catalytic properties, substrate specificity, biological role