

ОБЗОРЫ

УДК 577.344

©Дубинина, Пустыгина

СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ ПРИ СТАРЕНИИ, НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ И ДРУГИХ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ

Е.Е. Дубинина¹, А.В. Пустыгина^{2}*

¹Санкт-Петербургский научно-исследовательский психоневрологический институт им. В.М.Бехтерева, 193019 Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, 3;
факс: (812) 567-71-27; эл. почта: spbinstb@infopro.spb.su

²ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта РАМН, 199034
Санкт-Петербург, Менделеевская линия, 3, факс: (812) 328-98-91;
эл. почта: Pustygin@deltatel.ru

Обобщены литературные данные о роли окислительного стресса в процессе старения организма. Отражена связь некоторых показателей свободнорадикальных процессов (интенсивность генерации активных форм кислорода в митохондриях, окислительная модификация митохондриальной ДНК, активность десатураз, участвующих в биосинтезе полиненасыщенных C₂₀ и C₂₂ жирных кислот) с продолжительностью жизни. Рассматривается роль окислительного стресса в качестве одного из патогенетических звеньев многих заболеваний, в том числе и различных нейродегенеративных нарушений. Особое внимание уделяется окислительной модификации белков как одного из ранних и надежных индикаторов поражения тканей при свободнорадикальной патологии. Окислительная деструкция белков играет важную роль в этиологии таких нейродегенеративных заболеваний, как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона. Окислительный стресс и связанную с ним агрегацию белков рассматривают в качестве патогенетического звена в развитии семейного амиотрофического латерального склероза. С окислительной модификацией белков связывают развитие катаракты у больных. Повышение количества окисленных белков в тканях с возрастом и при различных патологических состояниях оценивают как одно из ранних и специфических показателей состояния окислительного стресса.

Ключевые слова: окислительный стресс, активные формы кислорода, окислительная модификация белков, старение, нейродегенеративные заболевания.

ВВЕДЕНИЕ. Токсическое действие активных форм кислорода (АФК) проявляется при окислительном стрессе (ОС), который сопровождается резкой интенсификацией свободнорадикальных процессов и снижением активности антиоксидантной защиты (АОЗ) в тканях.

Усиление свободнорадикальных процессов и развитие состояния ОС являются одним из патогенетических звеньев неврологических и психических поражений ЦНС, воспалительных процессов любого генеза, радиационных поражений, онкозаболеваний, сердечно-сосудистой и бронхолегочной патологий, химических интоксикаций и т. д. Старение организма также протекает на фоне окислительного стресса и, соответственно, свободнорадикальные процессы вовлекаются в патофизиологию всех сопутствующих заболеваний, в том числе, нейродегенеративных поражений.

* - адресат для переписки

Биохимические изменения в тканях, вызванные интенсивной генерацией АФК, при всех этих заболеваниях, в основном, имеют общие закономерности. Некоторые отличительные особенности можно выявить только на начальных стадиях. Так, при воспалительных процессах пусковым фактором интенсификации свободнорадикальных процессов является “дыхательный взрыв”, при гипоксии - нарушение, в первую очередь, системы тканевого дыхания, при химических поражениях - активация системы микросомального окисления. Причины, вызывающие интенсификацию свободнорадикальных процессов, могут быть разными, но изменения на молекулярном уровне носят однотипный характер, и процессы генерации АФК тесно переплетены между собой. Общим для всех заболеваний является усиление свободнорадикальных процессов и снижение буферной емкости АОЗ, нарушение её мобилизации в ответ на повышение активности прооксидантной системы (ПОС).

Структурная дезорганизация мембран в результате ОС приводит к повышению уровня цитозольного Ca^{2+} и неконтролируемому запуску каскада Ca^{2+} -зависимых реакций. В первую очередь, это активация протеолитических ферментов, липаз, эндонуклеаз, NO-синтазы. В условиях гипоксии наблюдается солюбилизация и активация лизосомальных ферментов, что приводит к интенсивному перевариванию собственных тканей. Активация фосфолипазы A_2 сопровождается отщеплением арахидоновой кислоты и включением ферментов “неконтролируемого каскада” арахидоновой кислоты. В ходе этих реакций образуются не только биологически активные соединения, но и АФК. Активация цикло- и липооксигеназного путей в различных тканях сопровождается накоплением лейкотриенов, тромбоксанов и простагландинов, которые могут способствовать спазму сосудов, особенно мозговых, с последующим кровоизлиянием.

С каскадом арахидоновой кислоты связано образование и аккумуляция 4-гидрокси-2-ноненаля, который повреждает ключевые ферменты метаболизма клетки - Na^+ , K^+ -АТФазу, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназу, различные киназы, стимулирует стресс-активируемые протеинкиназы. Таким образом, в результате метаболизма арахидоновой кислоты происходит генерация АФК и продуктов пероксидации липидов, что приводит к нарушению метаболизма фосфолипидов клеточных мембран. Считают, что интенсивный распад фосфолипидов клеточных мембран является ранним признаком развивающейся нейродегенерации [1].

При патологических состояниях, развивающихся на фоне ОС, многие нарушения метаболических процессов могут быть обусловлены изменением активности ферментов, связанных либо с их непосредственной инактивацией за счёт окислительной деструкции, либо за счёт окислительного нарушения кодирующих их нуклеиновых кислот и регуляции активности факторов транскрипции [2, 3].

При состояниях ОС наблюдаются глубокие изменения в метаболизме белков, жиров, НК, углеводов, водно-электролитном обмене, которые могут являться причиной тяжелых поражений тканей при ряде патологических состояний, таких как сердечно-сосудистая патология, деструктивные изменения мозга, воспалительные процессы, онкозаболевания и многие другие.

1. Некоторые аспекты свободнорадикальной теории старения.

Старение - это сложный биологический процесс, связанный с прогрессивным снижением физиологических и биохимических функций индивидуальных тканей или органов.

Особое значение в процессе старения приобретает ОС, так как он носит прогрессирующий и нарастающий характер независимо от действия антиоксидантной терапии и изменения внешних условий обитания организма. Впервые свободнорадикальная теория старения была сформулирована Harman D. и развита в последующих его исследованиях [4-6]. В дальнейшем это нашло свое подтверждение при исследовании пожилых людей и в опытах на старых животных [7-11].

Согласно свободнорадикальной теории, в процессе старения происходит нарастание молекулярных повреждений мембран и генетического аппарата клетки, вызванных АФК, ослабление функции защитных механизмов организма. Причиной этого является интенсивная генерация АФК в результате увеличения дефектов в защитной системе, направленной против образования реакционноспособных радикальных соединений, что приводит к накоплению их в тканях и повреждению белков, липидов, ДНК, углеводов. А это, в свою очередь, влечет за собой гибель клеток.

Все исследования, посвященные изучению свободнорадикальной теории старения, проводились по двум направлениям: 1) изучение состояния АОЗ и влияние на продолжительность жизни введения в пищевой рацион антиоксидантов и 2) изучение степени окислительной деструкции биополимеров (белков, липидов, нуклеиновых кислот, углеводов). Перед учеными стоял и продолжает стоять вопрос, какие из изучаемых процессов четко коррелируют с процессами старения, и какие ключевые механизмы способствуют прогрессирующей генерации свободнорадикальных процессов в тканях.

Первая серия работ была посвящена оценке активности отдельных ферментов-антиоксидантов в эксперименте на старых животных. Ряд исследователей показали, что существует прямая зависимость между содержанием и активностью антиоксидантных ферментов в организме и продолжительностью жизни [12-14].

На основании этих исследований возникла идея, что, возможно, старение связано со снижением ферментативной активности антиоксидантов. Особенно большое внимание уделялось и продолжает уделяться геропротекторной роли супероксиддисмутазы (СОД) в процессе старения организма [7, 15]. Выявлена положительная корреляция между высоким уровнем АОЗ и, в частности, СОД, и максимальной продолжительностью жизни.

Однако, в то же время в ряде лабораторий были получены совершенно противоположные сведения, в которых указано, что эндогенные ферменты-антиоксиданты и отдельные низкомолекулярные антиоксиданты негативно коррелируют с максимальной длительностью жизни. На основании этих данных представлены четкие доказательства, что скорость генерации АФК в тканях *in vivo* в нормальных условиях должна быть низкой у долгоживущих особей по сравнению со короткоживущими. Показано, что суперэкспрессия СОД в 1,5–4 раза чаще приводит к формированию стойкого патологического фенотипа в различных тканях трансгенных мышей, что проявляется в повреждении жизненно важных органов и сокращению длительности жизни [16].

Обнаружено значительное снижение общей активности СОД в скелетных мышцах людей в возрасте 66-75 лет. Параллельно отмечалось повышение активности Mn-СОД, особенно выраженное у пожилых людей в возрасте 78-85 лет [17]. В других исследованиях показано, что суперэкспрессия СОД сопровождается нарастанием нейродегенеративных изменений нейронов в процессе старения [18, 19]. Не обнаружено положительного эффекта суперэкспрессии глутатионредуктазы на максимальную продолжительность жизни [20]. Анализ большого объема экспериментальных исследований позволил прийти к выводу, что антиоксиданты не замедляют процессы старения организма и, следовательно, не контролируют скорость старения и продолжительность жизни [21-23].

Однако, как нам кажется, такое заключение носит довольно категоричный характер. Изучение отдельных компонентов антиоксидантной системы (АОС) не дает представления о состоянии всей АОЗ в тканях. Только комплексный анализ всех ферментативных и неферментативных компонентов АОЗ, соотношения процессов образования и обезвреживания АФК позволяют представить четкую картину о роли АОЗ в процессе старения организма и влиянии на продолжительность жизни. Необходимо принимать во внимание пространственную разобщенность реакций генерации АФК с расположением

антиоксидантов, высокую вязкость внутриклеточной среды, что замедляет контакт АФК с АОЗ. Около 20% общего количества радикалов не успевает прореагировать с СОД, они мигрируют через клеточную мембрану и стимулируют перекисное окисление липидов (ПОЛ) и окислительную деструкцию белков.

Появилось большое количество экспериментальных работ на животных, где было показано, что окислительное повреждение белков, липидов и нуклеиновых кислот занимает центральное место в процессе старения организма и в развитии заболеваний, связанных со старением: сердечно-сосудистые заболевания, опухоли, нейродегенеративные нарушения мозговой ткани, катаракта, снижение иммунной системы и др. [24-26]. И это может являться причиной необратимых повреждений тканей, особенно нервной ткани, нарушения психических и структурных функций головного мозга.

Атаке свободных радикалов подвергаются все уровни клеточных структур, и это, в первую очередь, сказывается на состоянии мембран. Мембраны нервных клеток особенно богаты полиненасыщенными жирными кислотами. По мере старения организма человека повышается чувствительность липидов мозга к окислительной деструкции. Наблюдается накопление продуктов липопероксидации в тканях головного мозга. При старении наибольшая степень липопероксидации отмечается в стволовой части мозга [27]. Выявлена повышенная чувствительность *corpus striatum* старых крыс к воздействию H_2O_2 и NO . Увеличение мембранной ригидности, обусловленное повышением уровня мембранного холестерина и сфингомиелина, может непосредственно увеличивать генерацию конъюгированных диенов, продуктов ПОЛ и рассматривается как функция старения [28-30].

В процессе старения организма наблюдается повреждение мембранных рецепторов в результате радикальных атак липидов и белков. В частности, в результате воздействия H_2O_2 нарушается целостность мембран, что, в первую очередь, отражается на снижении рецепторной чувствительности. Исследования состояния мембранных рецепторов показали, что в течение жизни человека и животных теряется от 50 до 70% рецепторов и на 25% снижается активность мембраносвязанных ферментов [31]. Отмечают нарушение функции рецепторов серотонина, дофамина, что сопряжено с нарушением сигнальной передачи. Со снижением холинергической сигнальной передачи связывают изменения в интеллектуальной активности человека и снижение памяти. В итоге морфологические изменения при старении затрагивают все клеточные структуры нейрона: митохондрии, эндоплазматический ретикулум, ядро, лизосомы [32].

Старение организма сопровождается повышенной чувствительностью многих белков к металл-катализируемому окислению (МКО), и в тканях накапливаются их окисленные формы [10, 33-37]. С возрастом в клетках появляются флуоресцирующие пигменты липофусцин и цероид агрегированных полимеров, которые аккумулируются в виде гранул в тканях. Эти пигменты содержат ионы металлов, продукты окисления белков, липидов, связанных между собой за счет дополнительных ковалентных и гидрофобных связей, и являются конечными продуктами окислительной деструкции белков и липидов [38, 39]. Усиление ПОЛ в мозге стареющих крыс коррелирует с накоплением липофусцинов. Это может быть частично обусловлено снижением активности протеасом, которые селективно разрушают модифицированные белки. Показано, что инкубация протеасом с липофусцин/цероидом приводит к ингибированию активности ферментов [40]. Склонность окисленных белков к агрегации в процессе старения также замедляет их ферментативный гидролиз.

Установлена связь процессов старения организма и окислительной модификации белков (ОМБ) в эритроцитах и фибробластах человека, гепатоцитах [41-44]. В старых эритроцитах увеличивалась концентрация карбонильных группировок окисленных белков и снижалась активность глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (КФ 1.2.1.12), аспаратаминотрансферазы (КФ 2.6.1.1) и

фосфоглицераткиназы (КФ 2.7.2.3) В фибробластах доноров 10–80 лет отмечен рост скорости ОМБ в зависимости от возраста. Такая же зависимость была выявлена и при исследовании гепатоцитов крыс разного возраста. Одновременно снижалась активность глутаминсинтетазы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, протеинкиназ. Обнаружено увеличение карбонильных производных белков в скелетных мышцах людей пожилого возраста (66–85 лет).

Таким образом, увеличение степени окислительных повреждений молекул с возрастом связаны с увеличением скорости генерации АФК, в частности, $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 за счет митохондриальных нарушений или истощения АОЗ, а также снижения эффективности устранения окисленных молекул.

Старение организма сопровождается нарушением синтеза белков на стадии элонгации. В результате окислительной посттрансляционной модификации фактора элонгации EF-2 происходит накопление карбонильных группировок белка и снижение уровня активной формы EF-2 [45].

В процессе старения организма возможно нарушение сигнальных путей, связанных с действием АФК в качестве вторичных мессенджеров. Так, для гепатоцитов старых мышей (24–29 месяцев) характерен низкий уровень синтеза ДНК после обработки физиологическими концентрациями H_2O_2 (5–10 мкМ) или стимуляции за счет рецептора эпидермального фактора роста EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor).

Воздействие высоких концентраций H_2O_2 (20–50 мкМ) сопряжено с резким снижением жизнеспособности клеток. Оба эффекта были связаны со снижением активации ERK киназы (Extracellular Signal-Regulating Kinase) и снижением фосфорилирования тирозиновых остатков EGFR в положении 1173. p38 (митоген-активированная протеинкиназа) в большей степени активировалась за счет H_2O_2 в старых гепатоцитах. Фармакологическое ингибирование ERK увеличивало чувствительность молодых клеток к H_2O_2 , что сопровождалось их гибелью, в то время как ингибирование активности p38 снижало чувствительность старых гепатоцитов к токсическому действию H_2O_2 . Возможно, при старении наблюдается повреждение общих сигнальных путей в клетках, сопровождающееся нарушениями их пролиферативной активности. Дисбаланс активности ERK и p38 приводит к повышенной чувствительности старых клеток к H_2O_2 [46].

В последние десятилетия процесс старения организма стали рассматривать как “Университет биоэнергетических болезней”. Это заключение основано на том, что были выявлены прогрессирующая аккумуляция мутаций митохондриальной ДНК и снижение тканевой клеточной биоэнергетики. С возрастом снижается способность митохондрий генерировать энергию. Митохондрии непосредственно вовлекаются в состояние старения и клеточной гибели посредством генерации АФК [47, 48].

Дисфункция митохондрий может являться главным фактором в процессе старения и возникновения связанных с ним заболеваний [49, 50].

В норме в результате функционирования цепи тканевого дыхания возможна единичная утечка электронов. При физиологических концентрациях кислорода около 5% электронов, проходящих через дыхательную систему митохондрий, идет на образование $O_2^{\cdot-}$, который разрушается Mn-SOD.

В процессе старения организма развивается состояние гипоксии тканей, что приводит к увеличению уровня восстановленности компонентов дыхательной цепи и накоплению в тканях субстратов, коферментов, флавинов- и гемсодержащих компонентов в восстановленном состоянии. В этих условиях за счет избытка доноров электронов может происходить более интенсивная их утечка, что сопряжено с дополнительной генерацией АФК, разобщением окислительного фосфорилирования, повышением лактата и, соответственно, развитием состояния ацидоза в тканях [51, 52]. Митохондриальная ДНК обладает высокой чувствительностью к окислительному повреждению, так как она не защищена от окисления гистонами или другими белками [47, 53, 54]. Гистоны выступают

в качестве активных ловушек АФК, так как в своем составе они содержат большое количество аргининовых и лизиновых остатков, что и определяет их защитное действие по отношению к ДНК. Старение сопровождается резко выраженным повреждением митохондриальной ДНК в человеческом мозге и степень этого повреждения в 10 раз выше, чем ядерной ДНК [55].

Мутацию ДНК рассматривают в качестве одной из причин старения и развития нейродегенеративных процессов. Отмечают связь между скоростью окислительного разрушения ДНК и максимальной продолжительностью жизни. Это основано на двух положениях: 1) факторы или процессы, которые усиливают скорость окислительного повреждения ДНК, ускоряют развитие старения и снижают длительность жизни; 2) в свою очередь, торможение специфических процессов и факторов, с которыми связана мутация ДНК, увеличение скорости репарации нуклеиновых кислот, низкокалорийная пища, приводит к обратным действиям [54, 56].

Окислительная деструкция ДНК сопровождается хромосомными изменениями, генными мутациями и гибелью клетки. Именно H_2O_2 имеет к этому специфическое отношение. Проникая внутрь ядра, пероксид водорода реагирует с хроматин-связанным железом, что сопряжено с генерацией OH^\cdot [57]. Нарушение структуры нуклеиновых кислот приводит к синтезу мутантных форм белков, в том числе ферментов системы тканевого дыхания, что, в свою очередь, способствует дополнительной генерации АФК. Высокая частота мутаций ДНК митохондрий является причиной более 100 болезней. Механизм исправлений повреждений ДНК в митохондриях организован хуже, чем в ядре. Накопление нерепарированных митохондриальных ДНК определяет процесс старения и, в конечном итоге, гибель клеток [58]. Результаты недавних исследований показали, что у людей и ряда млекопитающих с возрастом усиливаются процессы распада митохондриальной ДНК.

Показана связь между скоростью образования АФК в митохондриях и длительностью жизни индивидуума [50, 59, 60]. Организм с более низкой продолжительностью жизни имеет значительно более высокий уровень генерации АФК в митохондриях. Прогрессирующая аккумуляция мутаций митохондриальной ДНК и снижение клеточной биоэнергетики с возрастом приводит к развитию многих заболеваний. У престарелых людей выявлены дефекты митохондриальной ДНК клеток сердца и мозга.

Таким образом, анализ современных данных показал, что скорость старения индивидуума коррелирует со скоростью генерации АФК в митохондриях [61, 62]. Это отмечают во всех семействах долгоживущих теплокровных особей, независимо от скорости потребления кислорода. Это ключевое наблюдение позволяет объяснить, почему эндогенные тканевые антиоксиданты негативно коррелируют с максимальной продолжительностью жизни. Долгоживущие животные имеют низкий уровень АОЗ, так как у них наблюдается низкая скорость образования АФК. Скорость генерации H_2O_2 и $O_2^{\cdot-}$ митохондриями быка (максимальная длительность жизни около 30 лет) составляет приблизительно 20% от таковой у мышей (длительность жизни около 3,5 лет) [60].

Показано, что экспрессия гена Ras - *V12Ras* (Ras - низкомолекулярный GTP-связывающий белок), сопровождающаяся увеличением внутриклеточного уровня H_2O_2 , источником которой являются митохондрии, связана с активацией программы старения. Если поместить человеческие фибробласты в условия низкого содержания кислорода (менее 1%), то при экспрессии *V12Ras* наблюдается снижение продукции АФК. В этих условиях Ras неспособен участвовать в активации программы старения [63].

Наиболее иллюстративно это показано при сравнении интенсивности образования АФК у животных с одинаковой массой тела и скоростью метаболических процессов. Так, в митохондриях птиц (голуби), длительность жизни которых составляет около 35 лет, скорость генерации $O_2^{\cdot-}$ значительно ниже, чем у крыс (длительность жизни около 4 лет) с таким же размером тела и такой же

скоростью метаболических процессов в тканях [22, 50]. Разница больше выражена в скорости генерации АФК, чем в активности АОЗ [64, 65]. Несмотря на высокую скорость потребления кислорода, у них отмечается низкая скорость продукции АФК в митохондриях [22, 61]. Маленькие по своим размерам птицы и большие млекопитающие обладают низкой скоростью генерации АФК и замедленным старением организма, в то время как скорость метаболических процессов у крупных животных является низкой, а у птиц - высокой.

Varja и соавторы приходят к выводу, что скорость генерации АФК в большей степени коррелирует с максимальной продолжительностью жизни, чем скорость метаболических процессов и потребление низкокалорийной пищи. Это, в первую очередь, связано со снижением генерации АФК в митохондриях [21, 22, 61, 66].

Сравнительно высокая скорость генерации АФК в митохондриях короткоживущих особей способствует ускорению аккумуляции мутаций ДНК митохондрий. Уровень мутаций ДНК сопоставим у людей 70–100 лет и у мышей после 2–3 лет. Одним из признаков повреждения ДНК является накопление 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозина (8-hydroxy-2'-deoxyguanosine - 8-oxodG), что особенно выражено в митохондриях короткоживущих особей и сопряжено с повышенной скоростью аккумуляции мутаций ДНК [60, 67, 68]. Уровень 8-oxodG в митохондриях сердца и мозга млекопитающих и птиц негативно коррелирует с максимальной длительностью жизни, чего не наблюдалось при исследовании ядерной ДНК. В процессе старения организма содержание 8-oxodG в митохондриях выше, чем в ядре клетки.

Таким образом, уровень 8-oxodG является индексом окислительного повреждения ДНК, который увеличивается при старении, и это увеличение коррелирует со скоростью окисления глутатиона (GSH). Отношение окисленной формы к общему глутатиону прогрессивно растет в гиппокампе, коре и стриатуме и рассматривается как маркер старения [69]. Связанное со старением окисление GSH и митохондриальной ДНК может снижаться при лечении витаминами С, Е или экстрактом Гинкго билоба [50, 64]. Фактически, оксиданты, генерируемые в митохондриях, являются главным источником повреждения ДНК, белков и липидов, которые накапливаются при старении и приводят вторично к дисфункции митохондрий.

Другим параметром ОС, который также коррелирует с максимальной длительностью жизни, является степень насыщенности жирных кислот в клеточной мембране. Низкий уровень ненасыщенных жирных кислот в сердце, скелетных мышцах, почках и печени 12 видов долгоживущих особей (животных или птиц) обеспечивает защиту их от ПОЛ. Продукты ПОЛ вызывают глубокие изменения белков, связанные с их окислительной деструкцией, изменением конформации. Исходя из этого, у долгоживущих особей было обнаружено низкое содержание ненасыщенных жирных кислот и низкий уровень малонового диальдегид (МДА)-лизиновых и карбоксиметил-лизиновых белковых аддуктов в митохондриях сердца и печени. Такая низкая степень ненасыщенности жирных кислот связана не с диетой, а с генетически детерминированной низкой активностью $\Delta 5$ - и $\Delta 6$ -десатураз (КФ 1.14.99.5) у долгоживущих особей. Они являются лимитирующими факторами в биосинтезе полиненасыщенных длинноцепочечных C_{20} и C_{22} жирных кислот [70-72].

На основании анализа литературных данных Varja делает вывод, что 2 фактора ОС коррелируют с максимальной продолжительностью жизни особей: скорость генерации АФК в митохондриях и связанная с ними мутация ДНК, а также степень насыщенности мембранных липидов [21]. Эти показатели значительно ниже у всех долгоживущих теплокровных позвоночных и могут являться главной причиной медленной скорости старения. Они являются генетически детерминированными характеристиками, определяющими медленное накопление окислительных повреждений макромолекул.

Однако, как нам представляется, нельзя сбрасывать со счетов и состояние генетически детерминированной ферментативной АОЗ. Вопрос должен стоять не просто об активности отдельных компонентов АОЗ и ПОС и их корреляции с продолжительностью жизни, а о сбалансированности их между собой. Низкий уровень генерации АФК и высокая активность АОЗ создает высокие потенциальные возможности организму противостоять воздействию неблагоприятных внешних и внутренних факторов и обеспечивает более длительное функционирование организма. А низкая степень генерации АФК может быть обусловлена, с одной стороны, состоянием АОЗ, а с другой, - низким уровнем субстратов ПОС, подвергающихся окислению и, в первую очередь, ненасыщенных жирных кислот.

Возможно, следует говорить о генетически запрограммированной потенциальной мощности АОЗ, от которой зависит время появления первых признаков свободнорадикальных повреждений тканей в процессе старения организма. Исходно высокая активность АОЗ организма, активная ее мобилизация при постепенном старении организма, достаточное поступление антиоксидантов экзогенной природы — все это является надежной защитой от деструктивных поражений липидов, белков, нуклеиновых кислот и полисахаридов.

2. Роль окислительной модификации белков при патологических состояниях организма.

Свободнорадикальные процессы, степень их интенсификации являются одним из ведущих патогенетических факторов в развитии многих болезней в старческом возрасте. В литературе активно обсуждается роль ОС в развитии различных нейродегенеративных расстройств, таких как амиотрофический латеральный склероз, болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера (АБ), сосудистая деменция и др. [73-82].

Окислительная модификация белков (ОМБ) — один из ранних и наиболее надежных индикаторов поражений тканей при свободнорадикальной патологии. Имеются ряд исследований, подтверждающих, что при ряде патологических состояний именно белки, а не липиды и нуклеиновые кислоты являются эффективными ловушками генерируемых АФК, и их окислительная модификация рассматривается как один из ранних и надежных маркеров ОС [83]. Еще в 80-х годах появились первые сообщения о роли ОМБ при различных физиологических нарушениях в тканях, с которыми связаны процессы старения организма [26, 84-86]. Затем это нашло подтверждение в дальнейших многочисленных исследованиях, в которых было показано, что продукты окисления белков при окислительных повреждениях в тканях появляются раньше, и они более стабильны по сравнению с ПОЛ [44, 49, 87-90].

Повышение интенсивности ОМБ наблюдается при болезнях Альцгеймера (АБ) и Паркинсона [91-93]. Одним из проявлений ОМБ является повышение карбонильных производных белков. Белки плазмы, подвергшиеся окислительной деструкции, имеют довольно большой период полураспада. Исходя из этого, повышение карбонильных групп окисленных белков является наиболее перспективным маркером интенсивности свободнорадикальных процессов при ряде патологических состояний, при воздействии неблагоприятных внешних факторов. Причиной повышения уровня продуктов ОМБ при состояниях ОС может являться не только посттрансляционная окислительная модификация белков, но и интенсивность их протеолитической деструкции. При определенных условиях окислительной деструкции могут подвергаться ферменты протеолиза, что приводит к аккумуляции белков, в частности, в липофусцине. Нарушение этого соотношения рассматривается в качестве одного из патогенетических звеньев в ряде заболеваний, связанных, в частности, со старением [84, 94, 95].

В настоящее время проведена целая серия исследований, посвященных определению уровня карбонильных производных окисленных белков при старении организма и многочисленных патологических состояниях [96, 97].

Известно, что в процессе старения организма и связанных с ним нейродегенеративных заболеваний, наблюдается интенсификация окислительной деструкции белков, в том числе и липопротеинов, нарушение функции протеолитической системы, что приводит к накоплению агрегатов окисленных белков [98, 99]. ОМБ является клинически важным звеном в патогенезе заболеваний, развивающихся на фоне атеросклероза и нейродегенеративных нарушений при старении.

Окислительное повреждение белков играет важную роль в этиологии АБ [90, 100, 101]. Окислительная модификация различных внутриклеточных белков, включая ключевые ферменты и структурные белки, приводит к нейрофибриллярной дегенерации нейронов мозга при АБ, что сопровождается нарушением их структуры и гибелью [102, 103]. При АБ было обнаружено увеличение карбонильных производных белков [89, 96, 104]. Карбонильные производные были зарегистрированы в сенильных бляшках и нейрофибриллярных сплетениях [105]. Накопление окисленных белков при АБ связывали со снижением белкового оборота. Гистохимический анализ мозга больных, страдающих АБ, выявил два типа отложения окисленных нерастворимых белков: 1 - внеклеточные амилоидные бляшки; 2 - внутриклеточная нейрофибриллярная сеть (tangles), которая изначально состоит из белков tau и связанных с микротрубочками фосфорилированных белков [106].

Окислительная модификация белков (генерация карбонильных производных, битирозина, 3-нитротирозина) при АБ могут быть связаны с экспрессией миелопероксидазы (МПО) в сенильных бляшках, внутри- и внеклеточной нейрофибриллярной сети разных отделов коры мозга и гиппокампе [107]. Окисление гипохлоритом может также способствовать повышению карбонильных группировок белков, обнаруженных при болезни Паркинсона [92], болезни Альцгеймера [89, 90].

В плазме крови больных АБ зарегистрирован более высокий уровень карбонильных производных белков по сравнению с пожилыми людьми того же возраста без АБ. При фракционировании белков плазмы крови оказалось, что содержание окисленных белков с молекулярной массой 78 кДа почти в 2,5 раза выше по сравнению с контрольной группой. Эта фракция белков, выделенная из плазмы крови больных АБ, была наиболее чувствительной к окислению в опытах *in vitro*. Скорость окисления этой фракции у больных с АБ в 8 раз выше по сравнению с контрольной группой. Исследование степени окисления этой фракции может быть успешно использовано как маркер с целью своевременной диагностики развития АБ [106].

Аккумуляция окисленных белков в мозговой ткани больных АБ является характерным показателем этого заболевания. Так, окисленная форма аполипопротеина Е обнаружена параллельно с β -амилоидным пептидом в сенильных бляшках. В опытах *in vitro* в присутствии МПО наблюдается окисление изоформ аполипопротеина Е (Е2, Е3, Е4), которые становятся резистентными к тромбиновому протеолиту. Аполипопротеин Е в норме участвует в регуляции липидного метаболизма, и его функция в мозге связана с локальными рециклами холестерина и фосфолипидов. В норме участие аполипопротеина Е в рециклизации происходит через связывание со специфическими мембранными рецепторами. Его окисление приводит к нарушению этой функции. Окислительная модификация белка влияет на его липидсвязывающую способность и сопровождается дезорганизацией липидных мицелл. Окислительная деструкция аполипопротеина Е, снижение уровня холестерина и фосфолипидов, возможно, приводят к нарушению нейрональной пластичности у больных АБ [108-110].

У больных АБ, пожилых людей без АБ и молодых после их смерти изучали активность ферментов глутаминсинтетазы и креатинкиназы в *lobus occipitalis* и *lobus frontalis* [111]. Эти ферменты обладают высокой чувствительностью к окислительной модификации. В обеих группах пожилых больных отмечается снижение активности ферментов, особенно выраженное в *lobus frontalis*, что

связано с определенной нейропатологией - моторикой, соматосенсорикой. Снижение активности глутаминсинтетазы приводит к нарушению метаболизма глутамина, проявлению нейротоксического эффекта в результате патологической пролонгированной N-метил-D-аспаратат-рецепторной активности [112, 113].

Известно, что глутаминсинтетаза, обладая высокой чувствительностью к действию оксидантов, участвует в регуляции уровня ионов аммония и глутамата, модулируя эксайтотоксичность в мозговой ткани [114]. Глутаминсинтетаза вовлекается в регуляцию внутриклеточного уровня NH_4^+ и клеточного кислотно-основного баланса. Изменение внутриклеточной буферной способности для NH_4^+ или pH может привести к гибели нейронов. В частности, снижение pH приводит к высвобождению внутриклеточного железа, с которым связана генерация OH^\cdot . Креатинкиназа в равной степени снижается в обеих группах пожилых людей [111]. Снижение активности ВВ-изоформы креатинкиназы в мозговой ткани больных с АБ в связи с ее окислением приводит к снижению энергетической способности нейронов.

На модели мышей с ускоренным сроком старения выявлено увеличение карбонильных производных белков и снижение активности глутаминсинтетазы в корковых синапсомембранных мембранах по сравнению с нормальными животными. Снижение памяти и способности к обучению у животных с ускоренным типом старения может быть обусловлено изменением мембранных белков за счет их окислительной модификации [115].

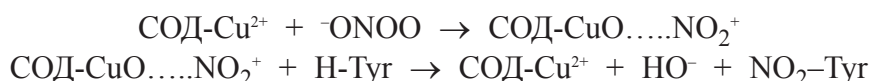
Известно, что β -амилоид может в водных растворах генерировать АФК, которые вызывают ОМБ. Показано, что синтетический β -амилоид (25-35) является причиной инактивации глутаминсинтетазы. Инактивация фермента, вызванная β -амилоидом, также, как инактивация, обусловленная МКО, сопровождается образованием карбонильных производных глутаминсинтетазы. Для проявления токсического действия β -амилоида не требуется наличия H_2O_2 или ионов железа. Но присутствие этих соединений увеличивает уровень карбонильных группировок белка. β -Амилоид может вызывать окислительную модификацию и других белков, в частности, бычьего сывороточного альбумина (БСА) [116].

Сосудистая деменция у пожилых людей также протекает на фоне ОС. Результаты наших исследований показали, что при развитии сосудистой деменции у пожилых больных людей наблюдаются глубокие структурные изменения со стороны белков плазмы [117-120]. Чем более выражена степень деменции, тем ниже уровень Fe^{2+} -катализируемой окислительной модификации белков, что может быть сопряжено с нарушением их функциональной активности в мозговой ткани, в частности, ферментативной и рецепторной. При выраженной деменции наблюдаются глубокие структурные изменения белковых молекул, связанные с преобладанием их агрегации, что затрудняет доступ короткоживущих радикальных продуктов к аминокислотам, подвергающимся окислению. Структурно-измененные агрегаты белков могут быть одним из компонентов липофусцинов, которые в виде гранул накапливаются с возрастом внутри клеток мозга. Таким образом, низкий уровень карбонильных группировок - продуктов МКО белков плазмы - является одним из показателей степени выраженности психических расстройств в процессе старения.

С возрастом увеличивается степень окисления белков в коре головного мозга и мозжечке, что связано со снижением когнитивной (познавательной) и двигательной функции у мышей [87, 121]. Окислительное повреждение миелина ЦНС наблюдается при действии генерированных *in vitro* АФК. Роль окисления миелиновых белков при некоторых неврологических нарушениях изучали Konett и Wiggins, которые показали, что после инкубации препаратов миелина с Cu^{2+} и H_2O_2 их уровень снижается, а уровень карбонильных группировок белков растет [122]. Окисленные белки быстро разрушаются под влиянием миелиновых протеаз. Поражение миелина может быть результатом ОС, а уровень окисленных белков можно считать своего рода индикатором тканевого поражения. Процессы демиелинизации и ремиелинизации связаны с уровнем окисленных белков.

ONOO⁻ ингибирует ключевой фермент биосинтеза дофамина - тирозингидроксилазу за счет нитрования тирозиновых остатков и окисления цистеиновых остатков белка [123, 124]. Известно, что ONOO⁻ является мощным оксидантом, который может модифицировать цистеиновые, триптофановые, метиониновые и тирозиновые остатки белков [125]. Считают, что нитрование тирозина и тирозиновых остатков белков является маркером токсического действия ONOO⁻ в клетках при различных патологических состояниях [126]. Увеличение нитропроизводных тирозиновых остатков белков, в частности, - синуклеина, обнаруженное при посмертном анализе в тканях больных, страдавших паркинсонизмом, подтверждает мнение о том, что нитрование тирозиновых остатков играет роль в развитии нейродегенеративных заболеваний, что сопровождается инактивацией тирозингидроксилазы и нарушением метаболизма дофамина. Параллельно наблюдается окисление цистеиновых остатков фермента, что также сопряжено с его инактивацией.

Для семейного амиотрофического латерального склероза (АЛС) характерна дегенерация больших двигательных нейрональных ядер спинного мозга, одной из причин которой является окислительная деструкция белков. У этой категории больных выявлены генетические изменения со стороны СОД, что приводит к снижению ее активности почти на 50%. Генерируемый O₂⁻ начинает активно реагировать с NO[•], образуя пероксинитрит. Последний взаимодействует с СОД, образуя нитропроизводные соединения, которые вступают в реакцию нитрования аминокислотных остатков белков и, в частности, тирозина [127]:



Так как двигательные нейроны не способны к регенерации, нитрование белков при АЛС приводит к тяжелым нейродегенеративным изменениям.

В настоящее время считают, что ОС и связанная с ним агрегация белков имеют патогенетическое значение при семейном АЛС, что позволяет рассматривать АЛС как свободнорадикальное заболевание [128-130]. Для него характерно увеличение степени окислительного повреждения макромолекул и, в частности, белков, что сопровождается их агрегацией и накоплением в виде включений в цитоплазме. Образующиеся белковые агрегаты содержат в большом количестве СОД, что сопровождается снижением её активности в нейронах [131-133]. Предполагают, что ковалентная агрегация СОД носит радикальный характер и имеет прямое отношение к развитию заболевания [134]. Бикарбонатный анион (НСО₃⁻) увеличивает ковалентную агрегацию Cu, Zn-СОД, опосредованную образованием карбонатного радикального аниона (СО₃⁻), связанного с проявлением пероксидазной активности фермента. Бикарбонатный анион присутствует в довольно больших количествах в тканях (25 ммоль). Он реагирует с активным центром фермента, подвергаясь при этом одноэлектронному окислению за счет Cu²⁺-ОН[•], который образуется в результате пероксидазной активности фермента. Образовавшийся СО₃⁻ является мощным и более стойким оксидантом, чем ОН[•] радикал. Он диффундирует в область активного центра белка и реагирует с триптофановым остатком, локализованным на поверхности белка. Окислительная деградация триптофанового остатка до кинуренина и N-формилкинуренина рассматривается как причина ковалентной агрегации СОД, которая является главным компонентом цитоплазматических включений для большинства нейродегенеративных заболеваний, в том числе, для АЛС [135, 136].

Предполагают, что окисление α-синуклеина, пресинаптического белка, и последующая его агрегация при АЛС связана с проявлением пероксидазной активности СОД и образованием СО₃⁻. Показано, что уровень образующихся ди- и тримеров α-синуклеина повышается с увеличением СО₃⁻, генерируемого в результате пероксидазной активности СОД [137]. Образующийся за счёт

СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ ПРИ СТАРЕНИИ И ПАТОЛОГИИ

пероксидазной активности СОД $\text{CO}_3^{\cdot -}$ вызывает окисление тирозиновых остатков, что приводит к образованию тирозильных радикалов. В норме HCO_3^- -зависимая окислительная реакция протекает значительно медленнее, чем дисмутазная реакция СОД. При АЛС за счет конформационных изменений в активном центре фермента происходит мутация СОД, в результате чего HCO_3^- -зависимое пероксидазное окисление становится более эффективным [136]. В физиологических условиях эта реакция не имеет большого значения (рисунок).

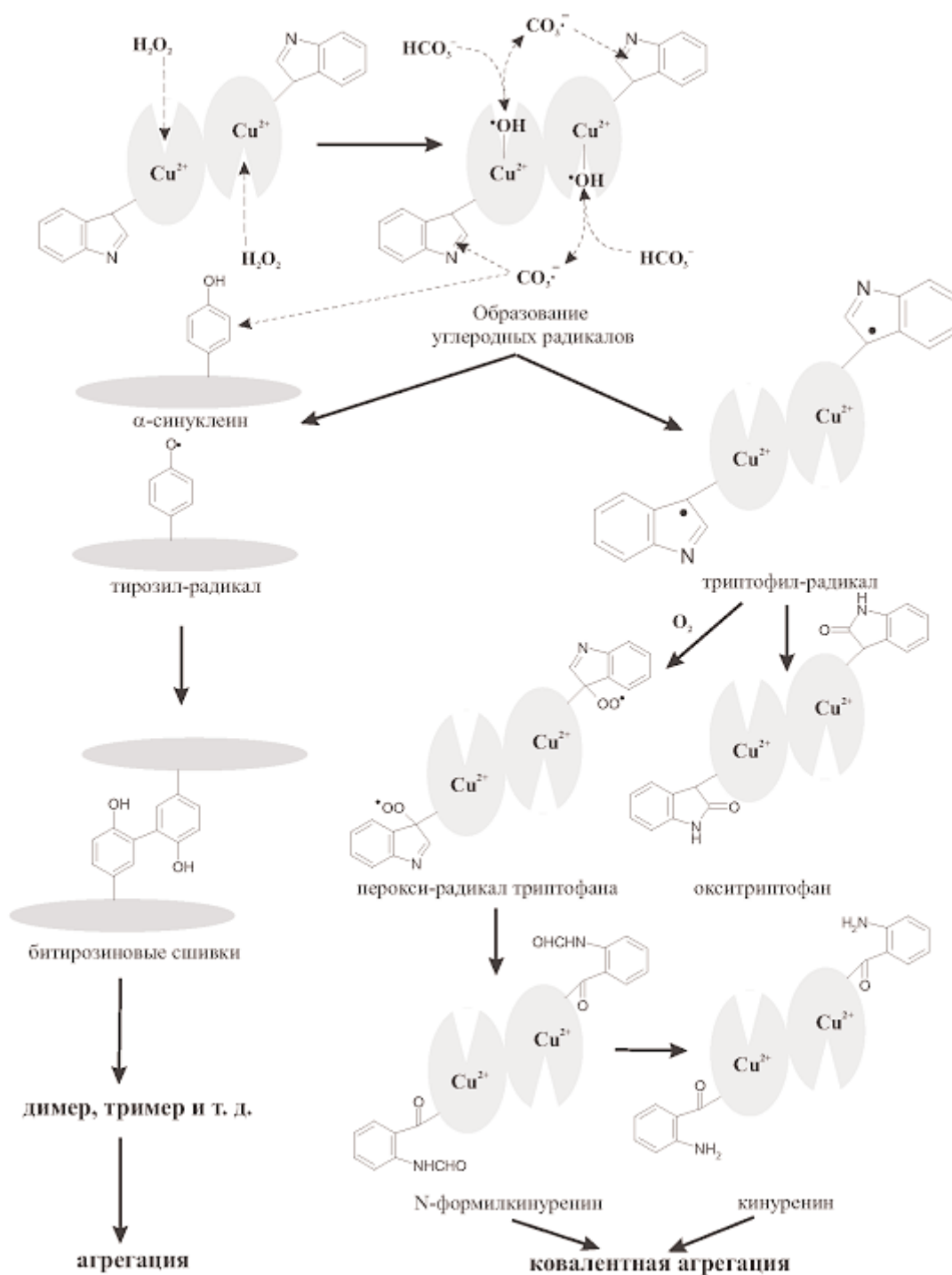


Рисунок.

Возможные механизмы ковалентной агрегации человеческой СОД и α -синуклеина в присутствии перекиси водорода и бикарбонатных анионов (по [136] с изменениями).

Это гипотеза привлекает к себе внимание тем, что при ряде нейродегенеративных заболеваний наблюдается агрегация белков. Так, при болезни Паркинсона обнаружено накопление агрегированной формы синаптического белка α -синуклеина в тельцах Леви. Хотя до конца неизвестен механизм вовлечения агрегированной формы синаптического белка α -синуклеина в процессах нейродегенерации, но его роль в патогенезе этого заболевания не подлежит сомнению [138]. Предполагают, что гемсодержащие белки (цитохром *c*), как источники железа, могут играть ключевую роль в патологической агрегации α -синуклеина в условиях ОС [139].

Выявлена связь между нарушением системы тканевого дыхания и интенсивностью агрегации α -синуклеина. Так, при действии ингибитора комплекса I дыхательной цепи митохондрий наблюдается снижение образования АТФ и увеличение степени агрегации белка. Таким же действием обладает и другой ингибитор системы тканевого дыхания – олигомицин [140]. По всей вероятности, генерируемые в результате нарушения функции митохондрий АФК вызывают окислительную деструкцию аминокислотных остатков белков и, в первую очередь, тирозиновых остатков, что приводит к образованию сшивок за счет тирозильных радикалов и, соответственно, усилению процессов агрегации α -синуклеина. При нейродегенеративных заболеваниях наблюдается нарушение митохондриальной системы тканевого дыхания, что является одной из причин накопления агрегированных белков, в том числе, и α -синуклеина.

С окислительной модификацией белков связывают развитие катаракты в процессе старения и при диабете [141-143]. В ряде работ показано увеличение окисления белков и липидов в крови диабетических больных и хрусталике глаз животных, у которых вызывали диабет [144, 145]. Высокие концентрации глюкозы (50, 100 мМ) способствуют окислению и модификации белков в культурах клеток хрусталика, очищенного альбумина и основного белка хрусталика - кристаллина (crystalline) [146]. Механизм действия глюкозы до конца неясен. Возможно, действие высоких концентраций глюкозы сопряжено с генерацией кислородных радикалов, что приводит к окислению белков, изменению химической структуры с последующей их агрегацией и развитием катаракты. Ранее была обнаружена генерация карбонильных производных альбумина в процессе гликирования и воздействия продуктов ПОЛ при участии аскорбиновой кислоты и полиненасыщенных жирных кислот [147].

Кислородные радикалы способствуют гликированию, окислению и агрегации белков, в частности - кристаллина, что может являться одной из причин помутнения хрусталика и развития катаракты в процессе старения организма [148]). Окисленный за счет гидроксильных радикалов α -кристаллин активно подвергается деградации за счет протеасом хрусталика [142]. На культуре тканей и с растворами белков альбумина и α -кристаллина показано, что витамин В₆, пиридоксамин и N-ацетилцистеин обладают способностью ингибировать окисление белков.

Инкубация хрусталика с компонентами, вызывающими МКО белков, приводит к изменениям, близким к тем, которые наблюдаются при старении организма. При катарактогенезе повышается уровень метионинсульфоксида – продукта окислительной модификации метиониновых остатков белков [149]. Показана роль фотоокисления белков в процессе катарактогенеза [150]. Особенно чувствительны к фотоионизации тирозиновые и триптофановые остатки белков ткани глаза, что приводит к образованию ароматических радикальных продуктов. N-формилкинуруенин является одним из основных продуктов фотоокисления, который может действовать как эндогенный фотосенсибилизатор ультрафиолетовой радиации. Фотоокисление триптофановых остатков белков с образованием N-формилкинуруенина может наблюдаться при развитии катаракты [151]. С ультрафиолетовым облучением белков хрусталика связывают, главным образом, генерацию синглетного кислорода и, в меньшей степени, супероксидного

анион-радикала [152]. Так, ультрафиолетовое облучение белков хустика человека в течение 1 час сопровождается аккумуляцией синглетного кислорода (до 2 мМ) и агрегацией белков [153].

Физико-химическое взаимодействие экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ) и интегринов, образование интегрин-ЭЦМ соединений в норме связывают с сигнальной трансдукцией, осуществляющей модуляцию функциональной активности клеток, в частности, адгезию, пролиферацию мезангиальных клеток. При ОС наблюдается окислительная модификация белков ЭЦМ, что приводит к нарушению клеточно-матриксного взаимодействия ЭЦМ, пептидного модулятора Арг-Гли-Асп-Сер и клеточных рецепторов - интегринов мезангиальных клеток - и способности к адгезии [154].

У пожилых людей, страдающих диабетом, а также без него, была выявлена окислительная модификация аминокислотных остатков тирозина и метионина коллагена, что, по мнению авторов, является аргументом того, что диабет сам по себе не вызывает повреждения ЭЦМ [155]. Выявленное увеличение гликированных продуктов коллагена кожи объясняется, в основном, гипергликемией без вовлечения генерализованного, диабет-зависимого ОС. Однако, с нашей точки зрения, такой подход к анализу окисления ЭЦМ кожи сужает оценку степени значимости ОМБ, в том числе ЭЦМ разных тканей, и состояния ОС в процессе развития диабета в любом возрасте.

Кроме карбонильных группировок при патологических состояниях могут быть зарегистрированы и другие продукты окисления белков.

Значительно повышается уровень 3-хлортирозина в липопротеинах низкой плотности (ЛПНП) в человеческой атеросклерозированной интиме (300 хлортирозина/млн тирозиновых остатков) по сравнению с уровнем в ЛПНП периферической крови (10 хлортирозина/млн тирозиновых остатков).

У больных с коронарной патологией чувствительными биомаркерами ОМБ являются 3-хлортирозин и 3-нитротирозин. Эти показатели отражают не только степень выраженности ОС у этих больных, но и могут быть использованы в качестве маркеров для прогнозирования течения заболевания [156].

o-Тирозин, *m*-тирозин и *o-o*-битирозин являются маркерами окислительных процессов, и они появляются в ЛПНП и БСА после инкубации с разными системами окисления ($\text{CuSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$; $\text{H}_2\text{O}_2/\text{МПО}$). В ЛПНП, выделенных из атеросклерозированных сосудов человека, полученных путем биопсии, обнаружили в 100 раз более высокое содержание *o-o*-битирозина по сравнению с циркулирующими ЛПНП [157]. При этом не было отмечено каких-либо изменений в уровне *o*-тирозина и *m*-тирозина в циркулирующих и тканевых ЛПНП. Полученные данные о повышении *o-o*-битирозина без увеличения других соединений существенно отличаются от результатов, полученных с ЛПНП и БСА в опытах *in vitro*.

Увеличение уровня *o-o*-битирозина белков отмечалось и в самой ткани, поврежденной атеросклерозом, по сравнению с неповрежденной тканью. Независимо от стадии атеросклероза уровень *o*-тирозина и *m*-тирозина не менялся. Это позволило сделать вывод, что *in vivo* основную роль в окислении ЛПНП и других белков стенки сосудов играет тирозильный радикал. Так как уровень *o*-тирозина одинаков в тканевых и циркулирующих ЛПНП, а ионы меди вызывают резкое увеличение *o*-тирозина, не влияя на *o-o*-битирозин, авторы отрицают возможное участие металлов в окислении ЛПНП [157].

Однако, имеются литературные данные о том, что в тканевых гомогенатах, полученных из атеросклерозированной поврежденной ткани, содержатся каталитически активные ионы металлов, которые могут вызывать окисление ЛПНП *in vivo* [158, 159]. Известно вовлечение МПО в генерацию тирозил-радикалов [160]. Активная форма МПО присутствует в человеческой склерозированной ткани и также может участвовать в генерации тирозил-радикала, который окисляет ЛПНП *in vivo* [161]. Окисленные ЛПНП идентифицированы в экстрактах тканей

сосудов кролика и человека в области атеросклеротических бляшек. В тканях нормальных артерий окисленные ЛПНП не определяются [162].

Окисление аполипопротеина В может происходить за счет радикальных продуктов ПОЛ. Фрагментация аполипопротеина В и снижение на 5–10% уровня лизина приводят к нарушению взаимодействия ЛПНП с рецепторами клеток. Продукты ПОЛ вызывают окислительную модификацию и других белков плазмы, в частности, БСА, которые быстрее, чем модифицированные аполипопротеины, связывают и блокируют рецепторы.

Пероксидация ненасыщенных жирных кислот сопровождается образованием высокотоксических промежуточных соединений, оказывающих разрушающее действие на окружающие ткани. В результате ПОЛ образуется группа токсических альдегидов типа 4-гидрокси-2-алкенали, 4,5-эпокси-2-алкенали, которые являются стабильными соединениями, способными диффундировать в окружающее пространство, вызывая повреждение биомолекул. Модификация белков и других биомолекул продуктами пероксидации липидов занимает центральное место при многих патологических состояниях, связанных с радикальными повреждениями [163, 164]. Так, МДА способен реагировать с аминогруппами аминов, аминокислот, белков, участвуя в образовании шиффовых оснований или дигидропиридинов. 4-Гидрокси-2-алкенали также реагируют с амино-, имидазольными и тиоловыми группировками аминокислотных остатков белков, изменяя их нативную структуру. 4,5-эпокси-2-алкенали быстро реагируют с белками и образуют пиррол–производные с последующей их полимеризацией [165]. Именно с этим процессом связывают появление флуоресцирующих липофусцин-подобных коричневых макромолекулярных пигментов [166].

Известно, что при АБ в результате интенсификации ПОЛ генерируют различные реактивные альдегиды, включая 4-гидроксиноненаль (4-HNE - 4-hydroxynonenal) и МДА, которые активно модифицируют белки, ДНК. С 4-HNE связывают разрушение аксонных отростков и микротрубочек при АБ. Клеточный тубулин является основным белком, подвергающимся модификации за счет 4-HNE при АБ [167]. Так, при АБ обнаруживаются аддукты белок-HNE, нитропроизводные тирозиновых остатков [88, 168, 169]. При болезни Паркинсона также повышаются HNE-аддукты [170].

Одной из причин накопления окисленных белков при старении может являться снижение активности 20S субчастицы протеасомного комплекса. Модификация фермента осуществляется за счет 4-HNE, что приводит к инактивации трипсиноподобной активности. Показано, что белки, связанные с 4-HNE, резистентны к деградации за счет протеасом, и они выступают в качестве неконкурентных ингибиторов ферментов. Накопление этих белков наблюдается в эпидермальных клетках старых людей наряду со снижением активности протеасом [171].

Недавно обнаружили, что другой продукт ПОЛ – акролеин – может взаимодействовать с белками, генерируя карбонильные производные [172]. Акролеин является крайне реактивным продуктом и способен образовывать ковалентные связи с белками *in vitro*, проявляя высокую реактивность к нуклеофилам типа лизина [173]. Акролеин модифицирует лизиновые и гистидиновые остатки с образованием акролеин-аминокислотных аддуктов по типу реакции присоединения Михаэля. Окисление цитоскелетных белков, включая модификацию за счет 4-HNE и акролеина, связывают с патогенезом нейрофибриллярной патологии и гибелью нейронов, в том числе и при АБ [169]. Акролеин может быстро соединяться с белком, способствуя генерации карбонильных производных, а акролеин-связанный белок может являться потенциальным маркером окислительной деструкции белков. Модификация белков за счет акролеина является одним из маркеров атеросклероза [174].

В последнее время комплексы окисленных липидов и белков стали рассматривать с несколько иных позиций. При изучении действия этих комплексов было обнаружено, что они защищают липиды и белки от окислительной

деградации за счет АФК, генерируемых в системах, содержащих металлы переменной валентности — железо, медь, аскорбиновую кислоту и H_2O_2 . Предполагают, что комплексы окисленных липидов и белков могут участвовать в процессе контролирования интенсивности ОС по типу обратной связи, характерной для действия ряда ферментов [175].

Возможно, на начальных стадиях ОС окисленные липиды способны реагировать с реактивными группировками белков, образуя соответствующие комплексы, которые проявляют антиоксидантные свойства по отношению к процессам пероксидации липидов и окислительной деструкции белков. На последующих стадиях ОС контролирующая функция этих комплексов снижается, о чем свидетельствует накопление окисленных белков, которые могут подвергаться либо протеолитическому гидролизу, либо взаимодействовать с шаперонами. Это приводит или к восстановлению нативной конформации белков, или к образованию комплексов с окисленными белками, которые активно разрушаются протеазами. Однако, не исключена аккумуляция агрегатов окисленных белков, их комплексов с липидами и продуктами их окисления в липофусцинах.

Таким образом, окислительная модификация белков является одним из ранних показателей поражения тканей при свободнорадикальной патологии. Количество окисленных белков в клетках обусловлено генетически и является их фенотипической характеристикой. Повышение уровня окисленных белков с возрастом и при различных патологических состояниях может быть обусловлено окислительным повреждением отдельных фрагментов ДНК, что ведёт к нарушению процесса регуляции окисления белков и их деградации, образованию мутантных белков.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Farooqui A.A., Ong W.-Y., Horrocks L.A.* (2004) *Neurochem. Res.*, **29**, 1961-1977.
2. *Walker K.W., Lyles M.M., Gilbert H.F.* (1996) *Biochemistry*, **35**, 1972-1980.
3. *Дубинина Е.Е.* (2001) *Вопр. мед. химии*, **47**, 561-581.
4. *Harman D.* (1968) *J. Gerontol.*, **23**, 476-482.
5. *Harman D.* (1992) In: "Free radicals and aging", (Emerit I., Chance B., eds.). Basel, e.a., pp. 1-10.
6. *Harman D.* (1994) *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **717**, 1-15.
7. *Гусев В.А. Панченко Л.Ф.* (1982) *Вопр. мед. химии*, **28**, 8-24.
8. *Beckman K.B., Ames B.N.* (1998) *Physiol. Rev.*, **78**, 547-581.
9. *Martinez-Cayuela M.* (1995) *Biochimie*, **77**, 147-161.
10. *Sohal R.S.* (2002) *Free Radic. Biol. Med.*, **33**, 37-44.
11. *Yu B.P.* (1996) *Free Radic. Biol. Med.*, **21**, 651-668.
12. *De Quiroga G.B., Lopez-Torres M., Perez-Campo R.* (1992) In: "Free radicals and aging", (Emerit I., Chance B., eds.). Basel, e.a., pp. 109-144.
13. *Cutler R.G.* (1991) *Am. J. Clin. Nutr.*, **53**, Suppl. P. 373S-379S.
14. *Cutler R.G.* (1991) *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **621**, 1-28.
15. *Tolmasoff J.M., Ono T., Cutler R.G.* (1980) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **77**, 2777-2781.
16. *Huang T.T., Carlson E.J., Gillespie A.M., Shi Y., Epstein C.J.* (2000) *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.*, **55**, B5-B9.
17. *Pansarasa O., Bertorelli L., Vecchiet J., Felzani G., Marzatico F.* (1999) *Free Radic. Biol. Med.*, **27**, 617-622.
18. *Ceballos-Picot I., Javoy-Agid F., Delacourte A., Defossez A., Lafon M., Hirsch E., Nicole A., Sinet P.-M., Agid Y.* (1991) *Free Rad. Res. Commun.*, **12**, 571-580.
19. *Jaarsma D., Haasdijk E.D., Grashorn J.A., Hawkins R., van Duijn W., Verspaget H.W., London J., Holstege J.C.* (2000) *Neurobiol. Dis.*, **7**, 623-643.
20. *Mockett R.J., Sohal R.S., Orr W.C.* (1999) *FASEB J.*, **13**, 1733-1742.
21. *Barja G.* (2002) *Free Radic. Biol. Med.*, **33**, 1167-1172.
22. *Barja G., Cadenas S., Rojas C., Perez-Campo R.* (1994) *Free Radic. Res.*, **21**, 317-327.

23. *Remacle J., Michiels C., Raes M.* (1992) In: "Free radicals and aging", (Emerit I., Chance B., eds.). Basel, e.a., pp. 99-108.
24. *Gutteridge J.M.C.* (1988) In: "Lipofuscin – 1987": State of the Art. (Zs.-Nagy ed.). Akademiai Kiado, Budapest and Elsevier Science Publishers, Amsterdam, pp. 69-82.
25. *Gutteridge J.M.C.* (1993) *Free Radic. Res. Commun.*, **19**, 141-158.
26. *Stadtman E.R.* (1988) *J. Gerontol.*, **43**, B112-B120.
27. *Волчегорский И.А., Шемяков С.Е., Телешева И.Б., Малиновская Н.В., Турыгин В.В.* (2005) *Физиология человека*, **31**, 108-115.
28. *Choi J.H., Yu B.P.* (1995) *Free Radic. Biol. Med.*, **18**, 133-139.
29. *Miyamoto A., Araiso T., Koyama T., Ohshika H.* (1990) *J. Neurochem.*, **55**, 70-75.
30. *Viani P., Cervato G., Fiorilli A., Cestaro B.* (1991) *J. Neurochem.* **56**, 253-258.
31. *Cotman C.W., Peterson C.* (1989) In: "Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular, and Medical Aspects. 4th", (Siegel G.J., ed.). Raven Press, Ltd., N.Y, pp. 523-540.
32. *Joseph J.A., Gupta M., Han Z., Roth G.S.* (1991) *Aging*, **3**, 361-371.
33. *Дубинина О.Ю.* (2001) *Медицина химия*, **3**, 5-12.
34. *Дубинина Е.Е.* (2003) Сборник статей РАН "Успехи функциональной нейробиологии". (ред. Дамбинова С.А. и Арутюнян А.В.). Изд. СПб университета, с. 285-301.
35. *Agarwal S., Sohal R.S.* (1993) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **194**, 1203-1206.
36. *Halliwell B.* (1992) In: "Free radical in the brain. Aging, neurological and mental disorders", (Packer L., Philipko L., Christen Y., eds.), Springer-Verlag, Berlin, N.Y., London, pp. 21-40.
37. *Marzabadi M.R., Yin D., Brunk U.T.* (1992) In: "Free radicals and aging", (Emerit I., Chance B., eds.). Basel, e.a., pp. 78-88.
38. *Yin D.* (1996) *Free Radic. Biol. Med.*, **21**, 871-888.
39. *Sohal R.S., Agarwal S., Dubey A., Orr W.C.* (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **90**, 7255-7259.
40. *Sitte N., Huber M., Grune T., Ladhoff A., Doecke W.-D., Von Zglinicki T., Davies K.J.A.* (2000) *FASEB J.*, **14**, 1490-1498.
41. *Oliver C.N.* (1987) *Arch. Biochem. Biophys.*, **253**, 62-72.
42. *Signorini C., Ferrali M., Ciccoli L., Sugherini L., Magnani A., Comporti M.* (1995) *FEBS Lett.*, **362**, 165-170.
43. *Stadtman E.R., Oliver C.N.* (1991) *J. Biol. Chem.*, **266**, 2005-2008.
44. *Stadtman E.R., Starke-Reed P.E., Oliver C.N., Carney J.M., Floyd R.A.* (1992) In: "Free radicals and aging", (Emerit I., Chance B., eds.). Basel, e.a., pp. 109-144.
45. *Parrado J., Bougria M., Ayala A., Castano A.* (1999) *Free Radic. Biol. Med.*, **26**, 362-370.
46. *Li J., Holbrook N.J.* (2003) *Free Radic. Biol. Med.*, **35**, 292-299.
47. *Shigenaga M.K., Hagen T.M., Ames B.N.* (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **91**, 10771-10778.
48. *Wallace D.C.* (1992) *Science*, **256**, P.628-632.
49. *Mecocci P., Fano G., Fulle S., MacGarvey U., Shinobu L., Polidori M.C., Cherubini A., Vecchiet J., Senin U., Beal M.F.* (1999) *Free Radic. Biol. Med.*, **26**, 303-308.
50. *Sastre J., Millan A., Garcia de la Asuncion J., Pla R., Juan G., Pallardo F.V., O'Connor E., Martin J.A., Droy-Lefaix M.T., Vina J. A.* (1998) *Free Radic. Biol. Med.*, **24**, 298-304.
51. *Chandel N.S., McClintock D.S., Feliciano C.E., Wood T.M., Melendez J.A., Rodriguez A.M., Schumacker P.T.* (2000) *J. Biol. Chem.*, **275**, 25130-25138.
52. *Kristal B.S., Yu B.P.* (1992) *J. Gerontol.*, **47**, B104-B107.
53. *Martinson H.G., McCarthy B.J.* (1975) *Biochemistry*, **14**, 1073-1078.
54. *Simic M.G.* (1992) In: "Free radicals and aging", (Emerit I., Chance B., eds.). Basel, e.a., pp. 20-30.
55. *Mecocci P., MacGarvey U., Kaufman A.E., Koontz D., Shoffner J.M., Wallace D.C., Beal M.F.* (1993) *Ann. Neurol.*, **34**, 609-616.
56. *Keogh B.P., Tresini M., Cristofalo V.J.* (1996) *Mech. Ageing Dev.*, **86**, 151-160.

57. *Martins E.A., Meneghini R.* (1990) *Free Radic. Biol. Med.*, **8**, 433-440.
58. *Sohal R.S., Ku H.-H., Agarwal S., Forster M.J., Lal H.* (1994) *Mech. Ageing Dev.*, **74**, 121-133.
59. *Guarnieri C., Muscari C., Caldarera C.M.* (1992) In: "Free radicals and aging", (Emerit I., Chance B., eds.). Basel, e.a., pp. 73-77.
60. *Ku H.H., Brunk U.T., Sohal R.S.* (1993) *Free Radic. Biol. Med.*, **15**, 621-627.
61. *Barja G.* (1999) *J. Bioenerg. Biomembr.*, **31**, 347-366.
62. *Brand M.D., Affourtit C., Esteves T.C., Green K., Lambert A.J., Miwa S., Pakay J.L., Parker N.* (2004) *Free Radic. Biol. Med.*, **37**, 755-767.
63. *Lee A.C., Fenster B.E., Ito H., Takeda K., Bae N.S., Hirai T., Yu Z.-X., Ferrans V.J., Howard B.H., Finkel T.* (1999) *J. Biol. Chem.*, **274**, 7936-7940.
64. *Garcia de la Asuncion J., Millan A., Pla R., Bruseghini L., Esteras A., Pallardo F.V., Sastre J., Vima J.* (1996) *FASEB J.*, **10**, 333-338.
65. *Ku H., Sohal R.S.* (1993) *Mech. Ageing. Dev.*, **72**, 67-76.
66. *Barja G., Herrero A.* (2000) *FASEB J.*, **14**, 312-318.
67. *Allen R.G., Tresini M.* (2000) *Free Radic. Biol. Med.*, **28**, 463-499.
68. *Herrero A., Barja G.* (1999) *Aging (Milano)*, **11**, 294-300.
69. *Joseph J.A., Villalobos-Molina R., Denisova N., Erat S., Cutler R., Strain J.* (1996) *Free Radic. Biol. Med.*, **20**, 821-830.
70. *Pamplona R., Portero-Otin M., Requena J.R., Thorpe S.R.* (1999) *Mech. Ageing Dev.*, **106**, 283-296.
71. *Pamplona R., Portero-Otin M., Riba D., Requena J.R., Thorpe S.R., Lopez-Torres M., Barja G.* (2000) *J. Gerontol.*, **55**, B286-B291.
72. *Pamplona R., Prat J., Cadenas S., Rojas C., Perez-Campo R., Lopez-Torres M., Barja G.* (1996) *Mech. Ageing Dev.*, **86**, 53-66.
73. *Гуляева Н.В., Ерин А.Н.* (1995) *Нейрохимия*, **12**, 3-15.
74. *Ames B.N., Shigenaga M.K., Hagen T.M.* (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **90**, 7915-7922.
75. *Beal M.F.* (2002) *Free Radic. Biol. Med.*, **32**, 797-803.
76. *Halliwell B.* (1992) In: "Free radical in the brain. Aging, neurological and mental disorders", (Packer L., Philipko L, Christen Y., eds.). Springer-Verlag, Berlin, e.a., pp. 21-40.
77. *Jones D.P., Mody V.C.Jr., Carlson J.L., Lynn M.J., Sternberg P.Jr.* (2002) *Free Radic. Biol. Med.*, **33**, 1290-1300.
78. *McIntosh L.J., Trush M.A., Troncoso J.C.* (1997) *Free Radic. Biol. Med.*, **23**, 183-190.
79. *Michiels C., Raes M., Pigeolet E., Corbisier P., Lambert D., Remacle J.* (1990) *Mech. Ageing Dev.*, **51**, 41-54.
80. *Parihar M.S., Manjula Y., Bano S., Hemnani T., Javeri T., Prakash P.* (1997) *Curr. Sci.*, **73**, 290-293.
81. *Parihar M.S., Pandit M.K.* (2003) *Gen. Physiol. Biophys.*, **22**, 29-39.
82. *Schulz J.B., Beal M.F.* (1995) *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **765**, 100-110.
83. *Halliwell B.* (1992) *J. Neurochem.*, **59**, 1609-1623.
84. *Oliver C.N., Ahn B.-W., Moerman E.J., Goldstein S., Stadtman E.R.* (1987) *J. Biol. Chem.*, **262**, 5488-5491.
85. *Oliver C.N., Ahn B.-W., Wittenberger M.E., Levine R.L., Stadtman E.R.* (1985) In: "Modification of Proteins during Ageing", (Adelman R.C., Dekker E.E., eds.). N.Y, pp. 39-52.
86. *Stadtman E.R.* (1988) *Exp. Gerontol.*, **23**, 327-347.
87. *Forster M. J., Dubey A., Dawson K.M., Stutts W.A., Lal H., Sohal R. S.* (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**, 4765-4769.
88. *Goto S., Takahashi R., Kumiyama A., Radak Z., Hayashi T., Takenouchi M., Abe R.* (2001) *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **928**, 54-64.
89. *Smith C.D., Carney J.M., Tatsumo T., Stadtman E.R., Floyd R.A., Markesbery W.R.* (1992) *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **663**, 110-119.
90. *Stadtman E.R.* (2001) *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **928**, 22-38.

91. Alam Z.I., Daniel S.E., Lees A.J., Marsden D.C., Jenner P., Halliwell B. (1997) *J. Neurochem.*, **69**, 1326-1329.
92. Floor E., Wetzel M.G. (1998) *J. Neurochem.*, **70**, 268-275.
93. Hensley K., Hall N., Subramaniam R., Cole P., Harris M., Aksenov M., Aksenova M. (1995) *J. Neurochem.*, **65**, 2146-2156.
94. Kato Y., Maruyama W., Naoi M., Hashizume Y., (1998) *FEBS Lett.* **439**, 231-234.
95. Oliver C.N., Ahn B.-W., Moerman E.J., Goldstein S., Stadtman E.R. (1987) *J. Biol. Chem.*, **262**, 5488-5491.
96. Perry G., Raina A.K., Nunomura A., Wataya T., Sayre L.M., Smith M.A. (2000) *Free Radic. Biol. Med.*, **28**, 831-834.
97. Yoritaka A., Hattori N., Uchida K., Tanaka M., Stadtman E.R., Mizuno Y. (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **93**, 2696-2701.
98. Levine R.L., Stadtman E.R. (2001) *Exp. Gerontol.*, **36**, 1495-1502.
99. Rideout H.J., Larsen K.E., Sulzer D., Stefanis L. (2001) *J. Neurochem.*, **78**, 899-908.
100. Markesbery W.R. (1997) *Free Radic. Biol. Med.*, **23**, 134-147.
101. Smith M.A., Perry G., Richey P.L., Sayre L.M., Anderson V.E., Beal M.F., Kowall N. (1996) *Nature*, **382**, 120-121.
102. Aksenov M.Y., Aksenova M.V., Butterfield D.A., Geddes J.W., Markesbery W.R. (2001) *Neuroscience*, **103**, 373-383.
103. Butterfield D.A., Drake J., Pocernich C., Castegna A. (2001) *Trends Mol. Med.*, **7**, 548-554.
104. Conrad C.C., Marshall P.L., Talent J.M., Malakowsky C.A., Choi J., Gracy R.W. (2000) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **275**, 678-681.
105. Smith M.A., Taneda S., Richey P.L., Miyata S., Yan S.D., Stern D., Sayre L.M., Monnier V.M., Perry G. (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **91**, 5710-5714.
106. Kampers T., Friedhoff P., Biernat J., Mandelkow E.M., Mandelkow E. (1996) *FEBS Lett.*, **399**, 344-349.
107. Green P.S., Mendez A.J., Jacob J.S., Crowley J.R., Growdon W., Hyman B.T., Heinecke J.W. (2004) *J. Neurochem.*, **90**, 724-733.
108. Белова Л.А., Оглоблина О.Г., Белов А.А., Кухарчук В.В. (2000) *Вопр. мед. химии*, **46**, 8-21.
109. Cuenod C.A., Kaplan D.B., Michot J.L., Jehenson P., Leroy-Willig A., Forette F., Syrota A., Boller F. (1995) *Arch. Neurol.*, **52**, 89-94.
110. Jolivald C., Leininger-Muller B., Bertrand P., Herber R., Christen Y., Siest G. (2000) *Free Radic. Biol. Med.*, **28**, 129-140.
111. Castegna A., Aksenov M., Aksenova M., Thongboonkerd V., Klein J.B., Pierce W.M., Booze R., Markesbery W.R., Butterfield D.A. (2002) *Free Radic. Biol. Med.*, **33**, 562-571.
112. Бокша И.С. (2004) *Биохимия*, **69**, 869-885.
113. Butterfield D.A., Hensley K., Cole P., Subramaniam R., Aksenov M., Aksenova M., Bummer P.M., Haley B.E., Carney J. M. (1997) *J. Neurochem.*, **68**, 2451-2457.
114. Levine R.L. (1983) *J. Biol. Chem.*, **258**, 11828-11833.
115. Carney J.M., Starke-Reed P.E., Oliver C.N., Landum R.W., Cheng M.S., Wu J.F., Floyd R.A. (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **88**, 3633-3636.
116. Aksenov M.Y., Aksenova M.V., Carney J.M., Butterfield D.A. (1997) *Free Radic. Res.*, **27**, 267-281.
117. Дубинина Е.Е., Ковругина С.В., Коновалов П.В., Солитернова И.Б., Морозова М.Г. (2000) *Успехи геронтологии*, **4**, 97-101.
118. Дубинина Е.Е., Коновалов П.В., Ковругина С.В., Толстухина Т.И., Морозова М.Г. (1998) *Нейрохимия*, **15**, 173-182.
119. Дубинина Е.Е., Леонова Н.В., Зыбина Н.Н., Коновалов П.В., Морозова М.Г., (1998) В сб.: *Фундаментальные и прикладные аспекты современной биохимии. Труды научной конференции, посвященной 100-летию кафедры биохимии СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. 15-17 октября 1998 г. Санкт-Петербург*, **2**, с. 425-429.

120. Дубинина Е.Е., Солитернова И.Б., Ковругина С.В., Зыбина Н.Н., Бакланова М.Ю., Морозова М.Г., Леонова Н.В., Кудряшова О.А. (2001) Укр. биохим. журнал, **73**, 125-132.
121. Sastre J., Pallardy F.V., Vima J. (2003) Free Radic. Biol. Med., **35**, 1-8.
122. Konat G.W., Wiggins R.C. (1985) J. Neurochem., **45**, 1113-1118.
123. Kuhn D.M., Aretha C.W., Geddes T.J. (1999) J. Neurosci., **19**, 10289-10294.
124. Kuhn D.M., Sadidi M., Liu X., Kreipke C., Geddes T., Borges C., Watson J.T. (2002) J. Biol. Chem., **277**, 14336-14342.
125. Squadrito G.L., Pryor W.A. (1998) Free Radic. Biol. Med., **25**, 392-403.
126. Good P.F., Werner P., Hsu A., Olanow C.W., Perl D.P. (1996) Am. J. Pathol., **149**, 21-28.
127. Beckman J.S., Carson M., Smith C.D., Koppenol W.H. (1993) Nature, **364**, 584.
128. Simonian N.A., Coyle J.T. (1996) Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol., **36**, 83-106.
129. Valentine J.S. (2002) Free Radic. Biol. Med., **33**, 1314-1320.
130. Yim M.B., Kang J.-H., Yim H.-S., Kwak H.-S., Chock P.B., Stadtman E.R. (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA., **93**, 5709-5714.
131. Rothstein J.D., Bristol L.A., Hosler B., Brown R.H.Jr., Kuncl R.W. (1994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **91**, 4155-4159.
132. Said Ahmed M., Hung W.Y., Zu J.S., Hockberger P., Siddique T. (2000) J. Neurol. Sci., **176**, 88-94.
133. Watanabe M., Dykes-Hoberg M., Culotta V.C., Price D.L., Wong P.C., (2001) Neurobiol. Dis., **8**, 933-941.
134. Shipp E.L., Cantini F., Bertini I., Valentine J.S., Banci L. (2003) Biochemistry, **42**, 1890-1899.
135. Zhang H., Andrekopoulos C., Joseph J., Chandran K., Karoui H., Crow J.P., Kalyanaraman B. (2003) J. Biol. Chem., **278**, 24078-24089.
136. Zhang H., Andrekopoulos C., Joseph J., Crow J., Kalyanaraman B. (2004) Free Radic. Biol. Med., **36**, 1355-1365.
137. Andrekopoulos C., Zhang H., Joseph J., Kalivendi S., Kalyanaraman B. (2004) Biochem. J., **378**, 435-447.
138. Hashimoto M., Takeda A., Hsu L.J., Takenouchi T., Masliah E. (1999) J. Biol. Chem., **274**, 28849-28852.
139. Souza J.M., Giasson B.I., Chen Q., Lee V.M.-Y., Ischiropoulos H. (2000) J. Biol. Chem., **275**, 18344-18349.
140. Lee H.-J., Shin S.Y., Choi C., Lee Y.H., Lee S.-J. (2002) J. Biol. Chem., **277**, 5411-5417.
141. Davies K.J.A. (1990) Adv. Exp. Med. Biol., **264**, 503-511.
142. Murakami K., Jahngen J.H., Lin S.W., Davies K.J.A. (1990) Free Radic. Biol. Med., **8**, 217-222.
143. Ottonello S., Foroni C., Carta A., Petrucco S., Maraini G. (2000) Ophthalmologica, **214**, 78-85.
144. Agardh E., Hultberg B., Agardh C. (2000) Curr. Eye Res., **21**, 543-549.
145. Telci A., Cakatay U., Salman S., Salman I. (2000) Diabetes Res. Clin. Pract., **50**, 213-223.
146. Jain A.K., Lim G., Langford M., Jain S.K. (2002) Free Radic. Biol. Med., **33**, 1615-1621.
147. Miyata T., Inagi R., Asahi K., Yamada Y., Horie K., Sakai H., Uchida K., Kurokawa K. (1998) FEBS Lett., **437**, 24-28.
148. Jain S.K., Palmer M. (1997) Free Radic. Biol. Med., **22**, 593-596.
149. Garland D. (1990) Exp. Eye Res., **50**, 677-682.
150. Davies M.J., Truscott R.J.W. (2001) J. Photochem. Photobiol., **63**, 114-125.
151. Pirie A. (1971) Biochem. J., **125**, 203-208.
152. Linetsky M., Ortwerth B.J. (1996) Photochem. Photobiol., **63**, 649-655.
153. Ortwerth B.J., Coots A., James H.L., Linetsky M. (1998) Arch. Biochem. Biophys., **351**, 189-196.
154. Mattana J., Margiloff L., Singhal P.C. (1997) Biochem. Biophys. Res. Commun., **233**, 50-55.

155. Wells-Knecht M.C., Lyons T.J., McCance D.R., Thorpe S.R., Baynes J.W. (1997) *J. Clin. Invest.*, **100**, 839-846.
156. Cheng M.L., Chen Y.C., Kor Y.L., Lee Y.S., Chiu D.T.Y. (2002) *Free Radic. Biol. Med.*, **33**, S329.
157. Leeuwenburgh C., Rasmussen J.E., Hsu F.F., Mueller D.M., Pennathur S., Heinecke J.W. (1997) *J. Biol. Chem.*, **272**, 3520-3526.
158. Lamb D., Mitchinson M.J., Leake D.S. (1995) *FEBS Lett.*, **374**, 12-16.
159. Swain J., Gutteridge J.M. (1995) *FEBS Lett.*, **368**, 513-515.
160. Savenkova M.I., Mueller D.M., Heinecke J.W. (1994) *J. Biol. Chem.*, **269**, 20394-20400.
161. Daugherty A., Dunn J.L., Rateri D.L., Heinecke J.W. (1994) *J. Clin. Invest.*, **94**, 437-444.
162. Steinberg D. (1997) *J. Biol. Chem.*, **272**, 20963-20966.
163. Shah G., Pinnas J.L., Lung C.C., Mahmoud S., Mooradian A.D. (1994) *Life Sci.*, **55**, 1343-1349.
164. Witztum J.L., Steinberg D. (1991) *J. Clin. Invest.*, **88**, 1785-1792.
165. Uchida K., Stadtman E.R. (1993) *J. Biol. Chem.*, **268**, 6388-6393.
166. Calingasan N.Y., Uchida K., Gibson G.E. (1999) *J. Neurochem.*, **72**, 751-756.
167. Neely M.D., Sidell K.R., Graham D.G., Montine T.J. (1999) *J. Neurochem.*, **72**, 2323-2333.
168. Mark R.J., Lovell M.A., Markesbery W.R., Uchida K. (1997) *J. Neurochem.*, **68**, 255-264.
169. Sayre L.M., Zelasko D.A., Harris P.L., Perry G., Salomon R.G., Smith M.A. (1997) *J. Neurochem.*, **68**, 2092-2097.
170. Yoritaka A., Hattori N., Uchida K., Tanaka M., Stadtman E.R., Mizuno Y. (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **93**, 2696-2701.
171. Friguet B., Bulteau A.L., Chondrogianni N., Conconi M., Petropoulos I. (2000) *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **908**, 143-154.
172. Uchida K. (1999) *Trends Cardiovasc. Med.*, **9**, 109-113.
173. Esterbauer H., Schaur R.J., Zollner H. (1991) *Free Radic. Biol. Med.*, **11**, 81-128.
174. Lovell M.A., Xie C., Markesbery W.R. (2000) *Free Radic. Biol. Med.*, **29**, 714-720.
175. Zamora R., Alaiz M., Hidalgo F. J. (1997) *Biochemistry.*, **36**, 15765-15771.

Поступила: 24. 11. 2006.

FREE RADICAL PROCESSES IN AGING, NEURODEGENERATIVE DISEASES AND
OTHER PATHOLOGICAL STATES

E.E. Dubinina¹, A.A. Pustygina²

¹Psychoneurological Bekhterev Institutes, ul. Bekhtereva, 3, St. Petersburg, 193019 Russia;
fax: (812) 567-71-27; e-mail: spbinstb@infopro.spb.su

²D.O. Ott Institute of Obstetrics and Gynecology RAMS, Mendeleyev Line, 3, St. Petersburg,
199034 Russia, fax: (812) 328-98-91; e-mail: Pustygina@deltatel.ru

Literature data on the role of oxidative stress in the ageing of an organism have been summarized. The connection of some parameters of free radical processes (intensity of generation of reactive oxygen species in mitochondria, oxidative modification to the mitochondrial DNA, the activity of desaturases participating in biosynthesis of polyunsaturated C₂₀ and C₂₂ fatty acids) with life expectancy has been demonstrated. Oxidative stress is one of pathogenetical events in many diseases, including various neurodegenerative disorders. The special attention is paid to oxidatively modified proteins as one of early and reliable indicators of tissue injury in freeradical pathology. Oxidative protein destruction plays an important role in etiology of such neurodegenerative diseases, as Alzheimer's and Parkinson's diseases. Oxidative stress and the aggregation of proteins connected with it are considered to be a pathogenetical part in the development of familial amyotrophic lateral sclerosis. Oxidatively modified proteins are also associated with the development of cataract. The increase of the oxidatized protein ratio with the age and in various pathologies is assessed as an early and specific parameter of oxidative stress.

Key words: oxidative stress, reactive oxygen species, oxidative modification of proteins, aging, neurodegenerative diseases.