

АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА КАК СИСТЕМА: ЗНАЧЕНИЕ В ФИЗИОЛОГИИ, ПАТОЛОГИИ И ЕСТЕСТВЕННОМ СТАРЕНИИ.

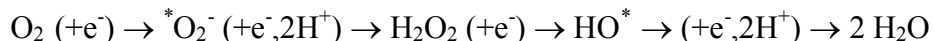
В.И.Донцов, В.Н.Крутько, Б.М.Мрикаев, С.В.Уханов.

ВВЕДЕНИЕ

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

АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА – ГЕНЕРАЦИЯ И ПОВРЕЖДЕНИЕ ТКАНЕЙ

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



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

Важнейшими АФК считаются: супероксидный радикал ${}^*O_2^-$, синглетный кислород 1O_2 , гидроксильный *OH и пероксидный HO_2^* радикалы, перекись водорода H_2O_2 , пероксидный ион HO_2^- , гипохлорит $HOCl$. Средняя концентрация их в тканях человека составляет 10^{-8} мМ. При снижении эффективности антиоксидантных систем организма АФК могут оказывать повреждающее воздействие на клетки и вызывать различные заболевания.

Основные механизмы генерации АФК связаны с нарушениями функционирования электронно-транспортных цепей митохондрий или микросом, особенно при низкой концентрации АДФ, а также при изменении свойств дегидрогеназ (Зайцев В.Г., 1998; Cross A.R., Jones O.T.G., 1991; Sandhu S.K., Kaur G., 2003). Важна роль и системы цитохрома P-450, локализованной в эндоплазматической сети (Gutteridge J.M., 1994; Gottlieb E., Armour S.M., 2003). Главным источником АФК в организме человека и животных служат клетки-фагоциты: гранулоциты, моноциты, макрофаги, нейтрофилы, эозинофилы (Болевич С.Б., 1998; Коган А.Х., 1999; Kinnula V.L.,

Soini Y., 2002). Мембраны фагоцитов содержат ферментативный комплекс (НАДФН-оксидазу), который окисляет НАДФН до НАДФ⁺ за счет восстановления O₂ до супероксидного радикала: НАДФН + 2O₂ > НАДФ⁺ + 2*O₂⁻. В фагоцитах комплекс НАДФН-оксидаза обеспечивает «окислительный взрыв» – быстрое избыточное образование *O₂⁻ в ходе стимуляции неспецифической защиты организма для разрушения бактерий (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1983). Фагоцит выделяет в окружающую среду АФК и ряд ферментов, среди которых миелопероксидаза катализирует реакцию образования гипохлорита из аниона хлора и перекиси водорода. Кроме того, в присутствии ионов железа происходит образование *ОН радикала из перекиси водорода и гипохлорита. Активированные фагоциты для борьбы с чужеродными клетками образуют ряд АФК, которые при взаимодействии друг с другом и с другими молекулами образуют также синглетный кислород ¹O₂ (Владимиров Ю.А., 2000).

АФК генерируются в ходе различных процессов в организме. ¹O₂ образуется и в реакциях фотоокисления в присутствии фотосенсибилизаторов: флавины, гематопорфирин и др., а также при дисмутации супероксидных радикалов (Зайцев В.Г., 2000). ¹O₂ агрессивен в отношении биосубстратов, в особенности молекул с двойной связью; конечным итогом таких реакций обычно является образование гидроперекисей органических молекул в процессах перекисного окисления ненасыщенных липидов в биомембранах (Осипов А.Н., Азизова О.А., Владимиров Ю.В., 1990). В присутствии металлов с переменной валентностью эти продукты запускают цепные реакции окислительной деградации биомолекул с образованием липидных радикалов, пероксидов и гидропероксидов (Кулинский В.И., 1999; Владимиров Ю.А., 2000). Перекисное окисление липидов осуществляется неферментативным путем, а также с участием липоксигеназ и циклооксигеназ. АФК вызывает также окисление нуклеотидов и нуклеиновых кислот, особенно ДНК и белков (Зайцев В.Г., 2000; Dizdaroglu M., 2002; Grune T., 2001; Levine R.L., 2001). Главным защитным механизмом такого процесса является β-каротин, переводящий синглетный кислород в триплетный, однако, обычная вода и α-токоферол также способны инактивировать ¹O₂. В клинической практике ¹O₂ участвует в кожных проявлениях некоторых генетических заболеваний – порфирий, а также в процессах эритемы при ультрафиолетовом облучении кожи при приеме лекарств, обладающих фотосенсибилизирующим действием (Кулинский В.И., 1999).

В процессе присоединения электрона к молекуле O₂ образуются супероксидный анион-радикал *O₂⁻ и гидроперекисный радикал HO₂*; оба они порождают ряд других АФК (Зенков Н.К., Меньшикова Е.Б., 1993; Bar-Or D., Sohal R.S., Swenson I., Brunk U.T., 1990; Sohal R.S., Dubey A.M., 1994). Основное количество *O₂⁻ образуется в митохондриях, которые используют 85-99% потребляемого O₂ (Fridovich I., 1997). Генерация *O₂⁻ происходит в дыхательной цепи и митохондриях при случайных сбоях в цепи переноса электронов, особенно при недостатке O₂ (Зайцев В.Г., 2000). Эти радикалы играют также важную роль в защитных неспецифических иммунных механизмах организма при инфекционных и других воспалительных процессах. Основными источниками *O₂⁻ являются ферментные системы: НАДФН-оксидаза фагоцитирующих клеток, ксантиноксидаза, митохондриальная цитохром с-оксидаза и митохондриальные монооксигеназы (Зенков Н.К., Меньшикова Е.Б., 1993, 1980). Гидроперекисный радикал HO₂* – реагирует с линолевой, линоленовой, арахидоновой кислотами, окисляя их до гидроперекисей. Образованию HO₂* радикала способствует закисление среды, он также свободно проникает через биомембраны, так как не несет заряда (Chance B., Sies H., Boveris A., 1979; Reeder B.J., Wilson M.T., 2001). Гидроперекиси липидов являются активными соединениями и обладают высокой биологической агрессивностью. Для протекания цепного окисления липидов в биологических мембранах необходимы переходные металлы, в частности, ионы железа.

Дисмутация O₂⁻ анион-радикалов под действием супероксиддисмутазы (СОД) в биологических тканях ведет к образованию перекиси водорода H₂O₂, способной легко проникать через мембраны клеток. H₂O₂ обнаруживается при фагоцитозе, при работе митохондрий и митосом (Гамалей И.А., Клюбин И.В., 1996; Зайцев В.Г., 2000). В присутствии ионов переходных металлов (например Fe²⁺) перекись водорода может давать высоко активный гидроксильный радикал

(ОН^{*}), обладающий наибольшей цитотоксичностью среди АФК (Владимиров Ю.А., 2000). Это определяет его преимущественно местное действие. При этом главными видами повреждений биомолекул являются: отрыв атома водорода (таким образом повреждается лецитин – компонент биологических мембран, а также сахара в составе нуклеозидов ДНК); присоединение к молекулам по двойным связям (взаимодействие с пуринами и пиримидинами ДНК и РНК, перенос электронов также является важным в повреждающем действии *ОН (Гамалей И.А., Клюбин И.В., 1996; Dizdaroglu M., 2002; Klungland A., Rosewell I., Zhang S., 2002). Прямое повреждение ДНК при этом характеризуется разрывом цепи, окислением оснований, их модификации, образованием гидропероксидов ДНК, повреждением хромосом. С белками *ОН образует гидропероксиды, что может изменить третичную структуру белков и даже вызывать их агрегацию и денатурацию (Зайцев В.Г., 2000; Beckman K.B., 1997; Vox H.C., Dawidzik J.B., Budzinski R.E.E., 2001). Это приводит к нарушению ферментативной и регуляторной активности многих процессов. С липидами *ОН образует перекисные соединения (Владимиров Ю.А., 2000). В образовании радикала *ОН важное значение имеют ионы металлов с переменной валентностью, в первую очередь Fe²⁺, входящие в состав гемоглобина, миоглобина и др.); в крови они находятся в связанной форме – с трансферрином (Зайцев В.Г., 2000; Comporti M., 2002). Отмечена генерация *ОН радикала и под действием связанного железа – лактоферрина, а также при действии гемоглобина на перекись водорода (Гамалей И.А., Клюбин И.В., 1996). Реакция цепного окисления липидов играет важную роль в клеточной патологии (Владимиров Ю.А., 2000; Каган В.Е., Орлов О.Н., Прилипко Л.Л., 1986). Она начинается с внедрения в липидный слой мембран радикала *ОН. Будучи незаряженным, он способен проникать в толщу гидрофобного липидного слоя и вступать в химическое взаимодействие с полиненасыщенными жирными кислотами биологических мембран и липопротеинов плазмы крови (Кузменко Д.И., 1999). При этом образуются липидные радикалы, которые вступают в реакцию с растворенным в среде O₂, образуя радикал липоперекиси. Этот радикал атакует одну из соседних молекул фосфолипида с образованием гидроперекиси липида и нового радикала. Далее развивается цепная реакция. При чрезмерном накоплении АФК и вторичных продуктов возникают патологические состояния, называемые оксидативным стрессом (Скулачев В.П., 1996; Khodr B., Khalil Z., 2001; Ortienis S., McConcey D.J., Nicotera P., 1998).

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

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

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

Схема 1



Схема 2.

КЛАССИФИКАЦИЯ СВОБОДНЫХ РАДИКАЛОВ

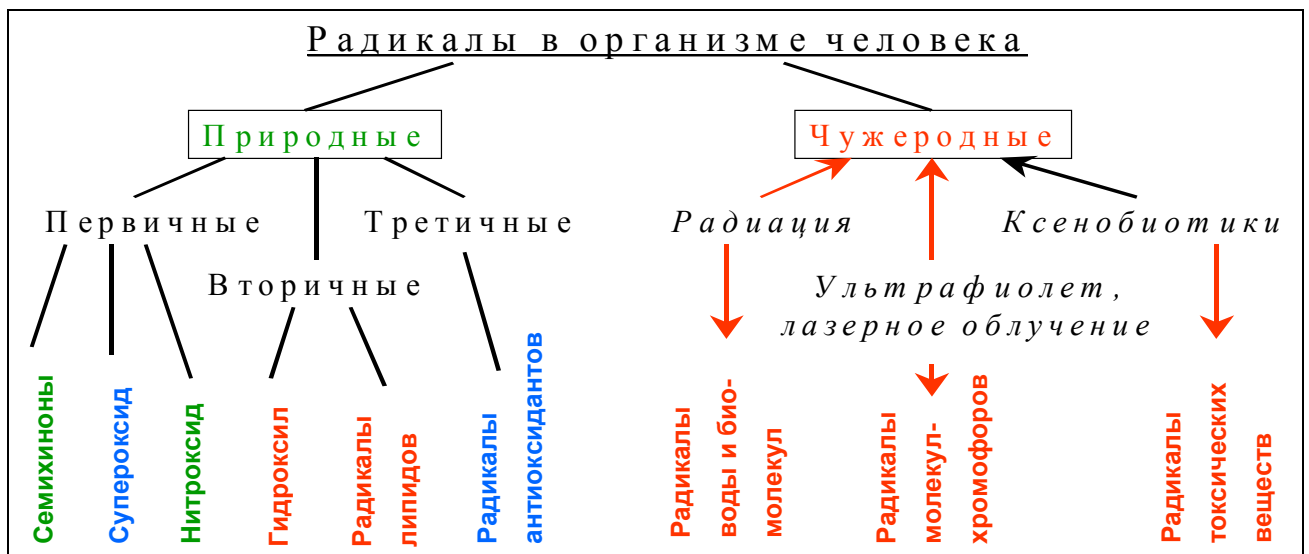


Таблица 1. Первичные радикалы

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

Таблица 2. Молекулы, образующие свободные радикалы

Название	Структура	Образуется	Биологическая роль
Перекись водорода	HOON	Супероксиддисмутаза, оксидазы	Субстрат миелопероксидазы
Гидроперекиси липидов	LOON	Цикло-оксигеназа	Фактор расслабления сосудов
Гипохлорит	HOCl		

Таблица 3. Вторичные радикалы

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

ЗАЩИТА ОРГАНИЗМА ОТ АФК

Все АФК являются окислителями клеточных компонентов и в больших количествах необратимо повреждают клетки (Владимиров Ю.А., 2000). Защита организма от АФК осуществляется функционированием системы антиоксидантной системы (АОС). АОС включает низкомолекулярные антиоксиданты (АО) и систему ферментов. Среди антиоксидантных ферментов выделяют три линии защиты: 1) СОД, каталаза, пероксидаза, 2) глутатион-пероксидаза и глутатионтрансфераза, 3) селеновая глутатионтрансфераза (Кулинский В.И., 1999).

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

КАТАЛАЗА. Перекись кислорода является предшественником очень реакционного радикала $\text{OH}\cdot$. Каталаза прерывает этот процесс, расщепляя H_2O_2 до H_2O и O_2 . В клетках каталаза в основном сосредоточена в пероксисомах, в которых содержатся и ферменты, продуцирующие перекись водорода, необходимую в ряде процессов жизнедеятельности организма, в частности, в системах неспецифической иммунной защиты (Владимиров Ю.А., 2000). Каталаза присутствует в разных тканях организма человека и животных. Максимальные количества ее обнаруживаются в эритроцитах, печени и почках. Каталаза обычно длительно сохраняет свою активность, почти не требует энергии активации для своей деятельности, поэтому скорость действия этого фермента лимитирована лишь скоростью диффузии субстрата к активному центру. Ряд исследователей наблюдали повышение активности каталазы (до 17 раз) при гепатитах, лизисе

эритроцитов, панкреатитах, и снижение - при хронических легочных заболеваниях, ревматоидном артрите и лейкозах. Активность каталазы обычно снижается при гипоксии (видимо, компенсаторно), что наблюдается при хронических заболеваниях легких, в то же время, острая пневмония сопровождается повышением активности фермента (Зайцев В.Г., 1998; Кулинский В.И., 1999).

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

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

ДРУГИЕ ФОРМЫ ЗАЩИТЫ ОТ АФК.

В инактивации АФК в организме участвуют также многие другие молекулы и ферментные системы (Осипов А.Н., Азизова О.А., Владимиров Ю.А., 1990). Классические в настоящее время антиоксиданты – витамины А,С,Е и каротиноиды, активны почти ко всем АФК без участия ферментов (Sharma S., Sharma R., 2001). АО перехватывают АФК и восстанавливают их (Jaruga P. et al., 2002; Lurnzi V., Melino G., Savini M., 1994). Гидрофильные АО (восстановленный глутатион и аскорбиновая кислота, карнозин, ансерин) защищают вещества гиалоплазмы и матрикса митохондрий, а гидрофобные АО (витамины Е и А и другие каротиноиды) локализованы в мембране и там же инактивируют АФК. Аскорбиновая кислота инактивирует СР, образуя неактивный радикал (семидегидроаскорбат), она же является кофактором пероксидазы. Глутатион, присутствуя в клетках в высоких концентрациях, является акцептором OH^* радикала и синглетного кислорода, а также кофактором глутатион-пероксидазы и глутатион-редуктазы. Это главный восстановитель клетки, его концентрация (1-10 мМ) выше, чем большинства органических веществ. Он прямо восстанавливает АФК, перекисные соединения и обезвреживает вторичные метаболиты окисления. Из других жирорастворимых агентов антиоксидантной активностью обладают стероидные гормоны, билирубин; из водорастворимых – церрулоплазмин (влияя на свободное железо крови), трансферрин, альбумин, SH-группы белков. Мочевая кислота присутствует в крови в достаточных количествах, чтобы эффективно акцептировать синглетный кислород и гидроксильный радикал. Подобными эффектами обладают этанол, маннит, глюкоза и некоторые другие органические вещества. В клинике применяются модифицированные препараты СОД и каталазы (Максименко А.В., 1993).

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

Схема 3.



АФК КАК ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ АГЕНТЫ

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

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

Снижение активности НАДФ*Н-оксидазы в фагоцитах приводит инфекции и сепсису (Bone R.S., 1992; Cohen J., 1995; Xin M.G. et al., 2003). Для защиты от АФК нейтрофилы содержат каталазу и глутатион-пероксидазу. Активация нейтрофилов сопровождается также любыми явлениями некроза ткани, в том числе микроинфаркты (Кулинский В.И., 1999; Nathan C.F. et al.,

1979). В запуске аутоиммунных процессов участвуют и окисленные липиды, обладающие антигенными свойствами (Владимиров Ю.А., 2000).

Сейчас становится ясно, что АФК являются важными физиологическими агентами в самой клетке. Они способны оказывать самые разнообразные регуляторные эффекты и опосредовать общие адаптационные реакции клетки, известные в настоящее время как «оксидативный стресс».

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

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

Стимуляция неспецифического иммунитета (фагоцитоз) - антиинфекционный эффект, регуляция воспаления;

Стимуляция специфического иммунитета (А-клетки, Т-лимфоциты);

Стимуляция антиопухолевого иммунитета (ЕК, ИЛ-1 из А-клеток);

Стимуляция регенерации (через Т-регуляторы деления клеток, через сосудистые реакции, А-клетки и др.);

Внутриклеточные регуляторы клеточного деления;

Регуляторы апоптоза в клетке;

Межклеточные переносчики апоптоза;

Регуляторы сосудистого тонуса (через NO и, возможно, непосредственно);

Регуляция обновления мембран клеток (умеренный процесс накопления ПОЛ является физиологическим стимулятором их самообновления);

Общеадаптационные эффекты (оксидативный стресс и дистресс) и др.

АФК В НЕСПЕЦИФИЧЕСКОМ ИММУНИТЕТЕ И ВОСПАЛЕНИИ

Известно, что неспецифический иммунитет во многом определяет характер и длительность воспалительных процессов (Воложин А.И., Сашкина Т.И., Савченко З.И., 1995; Меньшикова Е.Б., Зенков Н.Л., 1997; Хаитов Р.М. и др., 1994; Winrow V.R. et al., 1993) и образование АФК является важным защитным механизмом неспецифического иммунитета (Чекнеев С.Б., 1999; Ozaki Y., Ohashi T., Niva Y., 1986; Демченко Т.В., 1999; Донцов В.И. 1998; Козлов Ю.А. 1997; Передерий В.Г. 1995), в основном на уровне фагоцитоза (Болевич С.Б., 1998; Коган А.Х., 1999; Langerman J.A.M. et al., 1994; Ujihara M. et al., 2001). Быстрый процесс многократного повышения содержания *O₂- и H₂O₂ в фагоцитирующих клетках известен как «дыхательный взрыв» (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1983; Кулинский В.И., 1999) - до 90% потребленного O₂ идет на образование *O₂-, а затем H₂O₂. Высвобождение АФК в ходе «дыхательного взрыва» происходит как в фагосомы, так и в среду, разрушая бактерии и повреждая старые, а также иммунологически несовместимые и злокачественные клетки (Tan S., Wood M., 1988). Снижение активности НАДФ*Н-оксидазы в фагоцитах приводит инфекции и сепсису (Bone R.S., 1992; Cohen J., 1995; Xin M.G. et al., 2003). Активация нейтрофилов наблюдается при любых явлениях некроза ткани, в том числе микроинфарктах (Кулинский В.И., 1999, Nathan C.F. et al., 1979), с формированием аутоиммунных процессов – в них, видимо, участвуют окисленные липиды, обладающие антигенными свойствами (Владимиров Ю.А., 2000).

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

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

УЧАСТИЕ АФК В ПРОЦЕССАХ СТАРЕНИЯ ОРГАНИЗМА

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

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

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

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

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

НОВЫЕ МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ

Анализ путей фармакологической стимуляции антиоксидантных механизмов защиты организма показывает, что некоторые средства оказываются высоко эффективными в эксперименте и клинике. Важнейшим механизмом действия таких средств является влияние их на окислительно-восстановительный потенциал (ОВП) водных сред и макромолекул организма. В настоящее время актуальным становится разработка новых методов получения веществ с требуемыми показателями ОВП с применением электрохимически активированных систем (ЭХАС) на основе обычной воды или водных растворов (Бахир В.М., 2001; Беликов Г.П. с соавт., 2000; Подколзин А.А. с соавт., 2000, 2001; Прилуцкий В.И., Бахир В.М., 1997; Станулис А.И. с соавт., 2000, 2001). Для получения ЭХАС с обогащенными ионами H^+ или OH^- вода или раствор про-

пускается через электростатическое поле высокой напряженности в катодной или анодной камерах диафрагменного электрохимического реактора. Раствор, полученный при катодной обработке, называется католитом, а при анодной – анолитом. Для ЭХАС установлены три основных действующих фактора:

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

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

Другим современным методом воздействия на систему АФК является новый отечественный иммуномодулятор – Галавит (Донцов В.И., Подколзин А.А., 2001; Хохлов А.П., Калюжин О.В., Абидов М.Т., 1998; Любина Л.В. и др., 1998; Гришина Т.И., 2000 и др.). Это - достаточно простой по химической структуре препарат, показавший к настоящему времени свое высокое лечебное действие при самых различных патологических состояниях. Первичным механизмом действия галавита является умеренная обратимая супрессия макрофагов. Показано снижение синтеза ДНК, РНК и белка (в 2-5 раз) макрофагов при отсутствии влияния на дыхание макрофагов (в норме и при стимуляции заимозаном). Препарат нормализует (в зависимости от линии мышей) синтез антител, повышает Е-РОК (Т-лимфоциты) и ЕАС-РОК (В-лимфоциты), повышает КонА-РБТЛ (Т-супрессоры) и снижает ЛПС-РБТЛ (В-лимфоциты), стимулирует продукцию ИЛ-1 и ФНО, оказывает костимуляцию для продукции ИЛ-2 на низкие дозы КонА, снижает АДФ-активацию тромбоцитов (свертываемость) и снижает рост перевиваемой опухоли (Льюиса).

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

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

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: АФК КАК ОТДЕЛЬНАЯ СИСТЕМА ОРГАНИЗМА

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

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

В ходе старения снижается активность генерации АФК при относительной сохранности АО ферментов; уровень АФК повреждений в тканях и крови при этом отражает скорее общее снижение самообновления макромолекул, однако, повышение общей АО активности в старости может препятствовать одному из центральных механизмов старения – процессам свободно-радикального повреждения тканей.

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

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

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

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анисимов В.Н.//Успехи геронтологии.-2000.-Вып.4.-С.55-74.
2. Анисимов В.Н., Арутюнян А.В., Опарина Т.И., Бурмистров С.О., Прокопенко В.М., Хавинсон В.Х. //Российский физиол. ж. –1999.-Т.85.-№4.-С.502-507.
3. Бахир В.М. Электрохимическая активация: очистка воды и получение полезных растворов. Ред.-:ВНИИМИ.-М.-2001.-176 с.
4. Беликов Г.П., Локтионова Н.В., Мельникова В.М., Бахир В.М., Сухова О.И., Прилуцкий В.И., Окропиридзе Г.Г., Туманов Ф.А. //Кремлевская медицина. Клинический вестник.-2000.-№ 2.-С.55-60.
5. Болдырев А.А., Юнева М.О. //Биохимия. –2001. –Т.6. -№10. –С.1157-1163.
6. Болевич С.Б.//Терап. Арх. –1998.-№3.-С.54-57.

7. Воложин А.И., Сашкина Т.И., Савченко З.И. Иммуитет, типовые формы его нарушения и принципы коррекции. М.: -1995.-100 с.
8. Владимиров Ю.А.//Соросовский общеобразовательный журнал.-2000.-Т.6.-№12.-С.13-19.
9. Возрастная физиология. Сер.: Руководство по физиологии. :Наука. –Л. –1975. –692 с.
10. Второе республиканское совещание по электроактивированным средам. Казань.-1987.-124 с.
11. Гамалей И.А., Клубин И.В.//Цитология.-1996.-Т.38.-№12.-С.1233-1247.
12. Гришина Т.И. // Андрология и генитальная хирургия. – 2000. - №2. – С.14.
13. Гусев В.А.//Успехи геронтол.-2000ю.-Вып.4.-С.41-49.
14. Демченко Т.В., Дегтярева Э.П., Дворникова Т.С.//Цитология. -1999.-Т.41.-№9. С.767-768.
15. Донцов В.И., Крутько В.Н., Подколзин А.А. Фундаментальные механизмы геропротекции. М.:Биоинформсервис.-2002.-464 с.
16. Донцов В.И.//Физиология человека.-1998-Т.24.-№1.- С.82-87.
17. Донцов В.И., Подколзин А.А. // Ежегодник Национального геронтологического центра – 2001. – Вып.4 – С.70-80.
18. Зайцев В.Г.// Вестник Волгоградской мед. акад. –Волгоград. -1998. –Вып.4. –С.49-53.
19. Зенков Н.К., Меньшикова Е.Б.//Успехи современной биологии.-1993.-Т.113.-№3.-С.286-296.
20. Каган В.Е., Орлов О.Н., Прилипко Л.Л.//Итоги науки и техники. Сер. Биофизика. Т.18.-ВИНИТИ.-М.-1986.-220 с.
21. Козлов Ю.А., Прокопенко В.Д., Иванова А.С.//Совр. проблемы аллергологии, клин. иммунологии и иммунофармакологии.-М.: -1997.-С.478.
22. Кольтовер В.К.//Успехи геронтологии.-2000.-Вып.4.-С.33-40.
23. Коган А.Х.//Вестник РАМН. -1999. -№2.- С.3-10.
24. Кузменко Д.И.//Вопр. мед. хим.-1999.-№1ю.-С.17-24.
25. Кулинский В.И.//Соросовский общеобразовательный журнал.-1999.-№1.-С.2-7.
26. Лазорик М.И.//Лабораторное дело.-1981.-№7.-С.441-442.
27. Лю Б.Н.//Успехи соврем. Биол.-2000. - Т.121. -№5.-С.488-501.
28. Любина Л.В. и др.// Галавит в эксперименте и клинике. – М.: 1998. – С.33.
29. Максименко А.В. //Успехи современной биологии.-1993. -Т.113.-Вып.3. С.351-365.
30. Маянский А.Н., Маянский Д.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге. -Новосибирск. :Наука.-1983.-264 с.
31. Меньшикова Е.Б., Зенков Н.Л.//Успехи соврем. Биол.-1977.-Т.117.-№2.-С.155-171.
32. Осипов А.Н., Азизова О.А., Владимиров Ю.А.//Успехи биол.химии.-1990.-Т.31.-С.180-208.
33. Передерий В.Г., Земсков А.М., Бычкова Н.Г. и др. Иммуный статус и принципы его оценки и коррекции иммунных нарушений. – Киев.-1995.-344 с.
34. Подколзин А.А., Донцов В.И., Чернилевский В.Е., Мегреладзе А.Г., Мрикаева О.Ш., Жукова Е.А.//Бюл. эксперим. биол. мед.-2001.-Т.130.-№1.-С.66-68.
35. Подколзин А.А., Донцов В.И., Крутько В.Н., Мегреладзе А.Г., Прикаева О.М., Жукова Е.А.//Клинич.геронтол.-2001.-№3-4.-С.50-58.
36. Подколзин А.А., Хасанов Р.Ш. Заявка на изобретение N 365284.13 (121800) от 9.08.1983.
37. Подколзин А.А., Мегреладзе А.Г., Донцов В.И., Арутюнов С.Д., Мрикаева О.М., Жукова Е.А.//Профилактика старения. Ежегодник Нац. геронт. центра.-2000.-Вып3.-С.45-62.
38. Прилуцкий В. И., Бахир В.М.//Электрохимически активированная вода: аномальные свойства, механизм биологического действия.-М.:Медицина.-1997.–228 с.
39. Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д. Иммунология. Пер. с англ.–М.:-Мир.-2000.– 592 с.
40. Скулачев В.П.//Соросовский общеобразовательный журнал.-1996.-№3.-С1-8.

41. Станулис А.И., Подколзин А.А., Мегреладзе А.Г., Леснов Д.Б.// Актуальные вопросы практической медицины: Сборник научных работ, посвященный памяти Виктора Михайловича Могучева. – М.:.-2001.–С. 178-180.

42. Станулис А.И., Подколзин А.А., Мегреладзе А.Г., Леснов Д.Б., Израйлов Р.Е.//Актуальные проблемы хирургии: Сборник научных работ к 60 летию со дня рождения профессора В.А.Пенина.–М.:.-2001.–С. 161-163.

43. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Бутаков А.А., Андропова Т.М. //Immunotherapy of Infectious. Ed. N. Masihi. Marsel Dekker, Inc. N. Y., Basel, Hong Kong.-1994.-p.205-211.

44. Хансон К.П.//Успехи геронтологии.-1999.-Вып.3.-С.103-109.

45. Хохлов А.П., Калюжин О.В., Абидов М.Т.// Галавит в эксперименте и клинике. – М.:1998. – С.32.

46. Чекнеев С.Б.//Вестник РАМН.-1999. -№.2. - С.10-15.

47. Bar-Or D, Winkler JV.//Free radic biol med. –2002.-Vol.32.-No.2.-P.197-199.

48. Barja G.//Ageing res.rev.-2002.-Vol.1.-No.3.-P.397-411.

49. Beckman K.B., Ames B.N.//J. biol. chem. –1997.-Vol.272.-P.19633-19636.

50. Bone R.S.//Chit.Care med.–1992.–Vol.20.–P.724-726.

51. Vox HC, Dawidzik JB, Budzinski EE.//Free radic. biol. med. –2001.-Vol.31.-No.7.-P.856-868.

52. Burbon R.H.//New comp.biochem.-1994.-Vol.28.-P.155-185.

53. Burlacu J. et al.//Cell & tissue res.-2001.-Vol.306.-No.3.-P.409-416.

54. Chance B., Sies H., Boveris A.//Physiol.rev.-1979.-Vol.59.-P.527-605.

55. Cheeseman K.H., Slater T.F.//Brit.Med.Bull.-1993.-Vol.49.-P.481-493.

56. Cohen J.//Proceeding of satellite symposium held March 26, 1995, in Vena, Austria, in conjunction with the 7th European Congress of Clinical Microbiology and Infections Diseases.–1995.-P.4-7.

57. Comporti M.//Free radic biol med. –2002. -Vo1.32.-No.7.-P.565-567.

58. Cross A.R., Jones O.T.G.//Biochem.biophys.acta.-1991.-Vol.1057.-P.281-298.

59. Cutler R.G., Rodrigues H. World H. (Eds.) Critical review of oxidative stress and aging: advances in basic science, diagnostic and intervention. World scientific publishing Co. Singapore.-2003.-1523p.

60. Dizdaroglu M.//Free radic.biol.med. –2002. –Vol.32. –No.8. –P.677.

61. Duval C.//Free radical biol. And med.-2003.-Vol.35.-No.12.-P1589-1598.

62. Elliott S.J., Meszaros J.G., Schilling W.P.//Freeradical biol.med.-1992.- Vol.13.-P.635-650.

63. Finkel T., Holbrook N.J.//Nature.-2000.-Vol.408.-No.6809.-P.239-247.

64. Frindovich I.//J.biol.chem.-1997.-Vol.272.-P.18515-18517.

65. Gutterige J.M.//Chem.biol.interact.-1994.-Vol.91.-P.133-140.

66. Gottlieb E., Armour S.M.//Cell death and differentiation.-2003.-V0110.-P.709-717.

67. Grune T., Shringarpure R.//J.gerontol. –2001. –Vol.56. –No.11. –P. B459-B467.

68. Harman D.//Ann.NY Acad.Sci.-1994.-Vol.717.-P.257-266.

69. Harman D.//J.Anti-Aging Medicine.-1999.-Vol.2.-P.15-36.

70. Jaruga P, Jaruga B, Gackowski D, Olczak A, Halota W, Pawlowska M, Olinski R.//Free radic. Biol. med. - 2002. –Vol.32.-No.5. –P.414-420.

71. Kinnula V.L., Soini Y.//Antioxid.redox signal.-2002.-V014.-No.1.-P.27-34.

72. Kitani K., Minami C. et al.//Ann.N.J.Acad.sci. –2001.-Vol.928.-P.248-260.

73. Klungland A., Rosewell I., Hollenbach S.//Proc.Natl.Acad.Sci.USA.-1999.-Vol.96.-P.13300-13305.

74. Khodr B, Khalil Z.//Free radic.biol.med. –2001.-Vol.30.-No.1.-P.1-8.

75. Langermans J.A.M., Hazenbos W.L.W., van Furth R.//J.immunol.meth.-1994.-Vol.174.-P.185-194.

76. Lauranzi V., Melino G. Savini M.//European J. cancer.-1994.-Vol.31.-No.4.-P.463-466.

77. Levine R.L.//Exp. geront.-2001.-Vol.9.-No.9.-P.1495-1502.

78. McCord J.M.//Stress proteins in inflammation.-London. :Richelien Press.-1990.-P.125-134.
79. Mody N., Parhami F., Sarafian T.A., Demer L.L.//Free radical biol. And med.-2001.-Vol.31.-No.4.-P.509-519.
80. Nathan C.F., Silverstein S.O., Bruckner L.H., Cohn Z.A.//J.exp.med.-1979.-Vol.149.-P.100-113.
81. Ono T., Okada S.//Exp.Geront.-1984.-Vol.19.-P.349-354.
82. Orr W.C., Sohal R.S.//Med.Hypotheses.-1980.-Vol.6.-P.249-268.
83. Orriens S., McConcey D.J., Nicotera P.//Oxy-radicals in molecular biology and pathology.-NY :Alan R.Liss.-1988.-P.327-339.
84. Ozaki Y., Ohashi T., Niwa Y.//Inflammation.-1986.-Vol.10.-P.119-130.
85. Pollack M., Leeuwenburgh C.//J.gerontol. A.Biol.sci. and med.sci.-2001.-Vol.56.-No.11.-P.B475-B482.
86. Reeder BJ, Wilson MT.//Free radic. biol. med. -2001. -Vol.30. -No.11.-P.1311-1318.
87. Sandhu S.K., Kaur G.//Biogerontol.-2003.-Vol.4-No.1.-P19-29.
88. Sharma S., Sharma R.//Indian J. exp.biol.-2001.-Vol.39.-No.11.-P.1180-1183.
89. Sohal R.S., Swenson I., Brunk U.T.//Mech.Ageing Dev.-1990.-Vol.53.-P.209-215.
90. Sohal R.S., Dubey A.M.//Free Rad.Biol.Med.-1994.-Vol.16.-P.621-626.
91. Tan S., Wood. M.//J. neurochem.-1988.-Vol.71.-No.1.P.95-105.
92. Ujihara M, Nomura K, Yamada O, Shibata N, Kobayashi M, Takano K. //Free radic. biol. med. -2001.-Vol.31.-No.11.-P.1396-1404.
93. Valgimigli L, Pedulli GF, Paolini M.//Free radic. biol. med. -2001. -Vol.31.-No.6. -P.708-716.
94. Winrow V.R., Winyard P.G., Morris C.J., Blake D.R.//Brit.med.bull.-1993.-Vol.49.-P.506-522.
95. Xin M.G., Zhang L. Block E.R., Patel J.M.//Mech.ageing dev. -2003.-Vol.124. -No.8-9. -P.911-919.
96. Zhang J.//Mech. of ageing and develop.-2002.-Vol.123.-P.245-260.
97. Zhang J. //Amer.J.Pathol.-1999.-Vol.154.-P.1423-1429.