

---

ГБОУ ВПО СЗГМУ им. И. И. Мечникова Минздравсоцразвития России  
ФГУЗ КБ № 122 им. Л. Г. Соколова ФМБА России  
НИИ Военной медицины МО РФ

---

# ОКСИДАТИВНЫЙ СТРЕСС И ВОСПАЛЕНИЕ: ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ПАРТНЕРСТВО

Под редакцией  
профессора О. Г. Хурцилавы,  
профессора Н. Н. Плужникова,  
профессора Я. А. Накатиса

Санкт-Петербург  
Издательство СЗГМУ им. И. И. Мечникова  
2012

УДК 616.13-004.6-092:616.61  
О52

О52 Оксидативный стресс и воспаление: патогенетическое партнерство: Монография / Под ред. О. Г. Хурцилавы, Н. Н. Плужникова, Я. А. Накатиса. — СПб.: Издательство СЗГМУ им. И. И. Мечникова, 2012. — 340 с., ил.  
ISBN 978-5-89588-048-7

**Главные редакторы:** профессор О. Г. Хурцилава, профессор Н. Н. Плужников, профессор Я. А. Накатис.

**Заместители главных редакторов:** профессор С. В. Чепур, д-р мед. наук О. В. Чубарь.

**Коллектив авторов:**

Бакулина Лариса Сергеевна — д-р мед. наук, доцент  
Константинов Дмитрий Павлович  
Курпякова Анна Федоровна — канд. хим. наук  
Накатис Яков Александрович — д-р мед. наук, профессор  
Плужников Николай Николаевич — д-р мед. наук, профессор  
Плужникова Ирина Валентиновна  
Родионов Геннадий Георгиевич — д-р мед. наук  
Разумова Дина Владимировна  
Хурцилава Отари Гивиевич — д-р мед. наук, профессор  
Чепур Сергей Викторович — д-р мед. наук, профессор  
Чубарь Олег Владимирович — д-р мед. наук

**Рецензент:** академик РАМН д-р мед. наук, профессор Ю. В. Лобзин.

В монографии рассматриваются общие междисциплинарные вопросы биогенеза, параметаболических молекулярных процессов повреждения биоструктур, модификации эпигенетических механизмов регуляции экспрессии генов, формирования воспалительной реакции. Новое видение патогенеза септических состояний, вирусных пневмоний, острых тонзиллитов, ипритной патологии и формирования алкогольной зависимости создает базис эффективных направлений профилактики и терапии данных патологических состояний.

Издание предназначено для врачей и научных сотрудников, чья деятельность непосредственно связана с проблемами диагностики и коррекции патологических состояний, важной патогенетической составляющей которых являются оксидативный стресс, альтерация эпигенетической регуляции экспрессии генов, эндотоксемия и митохондриальные лиганды паттерн-распознающих рецепторов. Материалы монографии могут быть полезны студентам высших учебных заведений медико-биологического профиля и слушателям системы последиplomного образования.

© Коллектив авторов, 2012

© Издательство СЗГМУ им. И. И. Мечникова, 2012

## ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие.....	4
Условные сокращения.....	5
<b>Глава 1. Оксидативный стресс: мировоззренческие, фундаментальные и прикладные проблемы</b> .....	6
1.1. Энтропия, кислород и биогенез .....	6
Литература.....	17
1.2. Кислород и неферментативное окисление .....	21
Литература.....	30
1.3. Редокс-регуляция .....	35
Литература.....	57
1.4. Антиоксидантная защита биологических систем .....	74
1.4.1. Ферментативные антиоксиданты.....	75
Литература.....	85
1.4.2. Неферментативные антиоксиданты.....	97
Литература.....	111
1.4.3. Митохондриальные антиоксиданты.....	126
Литература .....	138
1.5. Фармакологическая коррекция проявлений оксидативного стресса....	151
<b>Глава 2. Сепсис: бунт на тонущем корабле (обоснование подходов к терапии)</b> .....	153
Литература.....	175
<b>Глава 3. Терапия вирусных пневмоний (обоснование подходов)</b> .....	201
Литература.....	210
<b>Глава 4. Иприт: новые трюки старого пса (обоснование подходов к терапии)</b> .....	222
Литература.....	236
<b>Глава 5. Способ лечения острой ангины (острого тонзиллита)</b> .....	250
Литература.....	263
<b>Глава 6. Этиловый алкоголь и алкоголизм: новая парадигма</b> .....	275
Литература.....	306

## ПРЕДИСЛОВИЕ

Незаметно мы оказались в мире информационных технологий. Глобальная информатизация революционно и беспрецедентно изменяет все стороны жизни каждого человека и человечества в целом. Интенсивность накопления информационных ресурсов и их доступность поражают воображение. Новейшие технологии фундаментальных медико-биологических исследований чрезвычайно расширяют наши представления о феноменологии молекулярных процессов в биологических системах. На этом фоне особенно остро ощущается необходимость работ обобщающего характера, поскольку информационные технологии пока не отличаются внутренней творческой активностью.

Систематизация, казалось бы, не связанных между собой биологических явлений и процессов позволяет на новом уровне увидеть целостность живого организма во всем многообразии внутренних и внешних взаимосвязей, оценить значимость тех или иных феноменов как в отправлении физиологических функций, так и в формировании патологических состояний. Это позволяет определить и перспективные направления дальнейших исследований, и наиболее эффективные пути коррекции патологических состояний.

Коллективу авторов данной монографии удалось творчески осмыслить целый ряд медико-биологических проблем и, поднявшись до уровня философских обобщений, наметить нетривиальные способы их решения. Монография, несомненно, будет интересна широкому кругу специалистов клинических и теоретических медико-биологических дисциплин.

*Академик РАМН Ю. В. Лобзин*

## УСЛОВНЫЕ СОКРАЩЕНИЯ

АО	– антиоксидант
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ЖКТ	– желудочно-кишечный тракт
КДГ	– ксантиндегидрогеназная изоформа ксантиноксидоредуктазы
КОР	– ксантиноксидоредуктаза
КСО	– ксантиноксидазная изоформа ксантиноксидоредуктазы
МАРК	– митогенактивируемая протеинкиназа
МП	– молекулярные продукты
мРНК	– матричная рибонуклеиновая кислота
НВЭ	– нормальный водородный электрод
ОВП	– окислительно-восстановительный потенциал
РНК	– рибонуклеиновая кислота
СОД	– супероксиддисмутаза
ТЗ	– трийодтиронин
тРНК	– транспортная рибонуклеиновая кислота
ФГИ	– фосфоглюкозоизомераза
CRF	– кортикотропин-релизинг фактор
КА	– кинурениновая кислота
LPS	– липополисахарид
mtNOS	– митохондриальная NO-синтаза
MIF	– фактор ингибирования миграции макрофагов
PAMPs	– патоген-ассоциированные молекулярные образы
RVLM	– роstralная часть вентролатерального отдела продолговатого мозга
QA	– хинолиновая кислота
SIRS	– синдром системной воспалительной реакции
TLRs	– Toll-подобные рецепторы

# ГЛАВА 1. ОКСИДАТИВНЫЙ СТРЕСС: МИРОВОЗЗРЕНЧЕСКИЕ, ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ ПРОБЛЕМЫ

## 1.1. ЭНТРОПИЯ, КИСЛОРОД И БИОГЕНЕЗ

Взгляды людей на возникновение жизни, биологическую эволюцию составляют одну из естественнонаучных основ их мировоззрения и мировосприятия, видения своего места в мироздании. Проблема происхождения жизни еще не получила научно-доказательного разрешения. Отсутствие убедительного экспериментально обоснованного ответа на вопрос о путях абиотического формирования системы транскрипции-трансляции генетической информации в структурно-функциональные параметры полипептидных цепей до самого последнего времени возводило проблему возникновения самовоспроизводящихся биологических систем, одновременно обладающих взаимoadaptированными генетическим аппаратом и энзиматической машинерией, в категорию неразрешимых. И в очередной раз получила подтверждение мудрость испанской поговорки, послужившей фабулой одноименного офорта Франциско Гойи «El sueño de la razón produce monstruos» («Сон разума рождает чудовищ»). При всех достижениях и возможностях современного естествознания отсутствие теории биогенеза явилось благодатной почвой для произрастания сомнений в принципиальной разрешимости данной проблемы и множества конкурирующих концепций возникновения жизни [1–3]. Дело доходит до того, что для объяснения феномена биогенеза и сущности живого привлекаются непознаваемые нематериальные факторы («Творец всего сущего», «сверхприродный Абсолют», «Космический разум» и т. п.) [4–8].

Для мыслителей античности и средневековья все вокруг было одухотворенным. Они не видели непреодолимого барьера между живым и неживым. Аристотель и его последователи вплоть до XVII столетия считали зарождение жизни заурядным, повседневным явлением. Согласно их представлениям, мироздание насыщено могучей «животворной силой», способной заставить косную материю (*materia inertis*) порождать жизнь, поэтому в гниющих отходах легко и просто зарождаются черви и мухи, в грязном старом тряпье — мыши, на подводных предметах — моллюски и водоросли. Последователем данного учения — витализма — была советский биолог академик АМН СССР О. Б. Лепешинская, предложившая теорию новообразования клеток из бесструктурного «живого вещества» и считавшая кристаллы переходным состоянием вещества в процессе его трансформации в существо [9]. А ведь еще в 1865 году в диспуте с Феликсом Пуше Луи Пастер доказал отсутствие «жизненной силы» и таким образом закончил с витализмом. Однако остались и существуют в настоящее время концепции креационизма и панспермии.

Панспермия — гипотеза о появлении жизни на Земле в результате переноса «космических зачатков», «зародышей жизни» с других планет. Данная концепция заселения нашей планеты предложена немецким врачом Г. Рихтером в 1865 году [10]. Он полагал, что жизнь вечна и ее зачатки («космозои»), населяющие мировое пространство, могут переноситься с одной планеты на другую.

Гипотеза панспермии поддерживалась Г. Гельмгольцем, У. Томпсоном (лордом Кельвином), В. И. Вернадским, С. Аррениусом. С. Аррениус исходил из того, что вечно существующие «зародыши жизни» могут разноситься с обитаемых планет давлением света [11]. Содержательная суть данной концепции в том, что жизнь как таковая является одним из фундаментальных, характеристических свойств материи. В последнее время наиболее активно обсуждается возможность обмена «зародышами жизни» между планетами Марс и Земля. Однако все попытки поиска живых существ, их следов в составе метеоритного материала пока так и не принесли положительного результата. Метеоритное вещество оказалось достаточно богатым органикой, не обладающей хиральной чистотой. Последнее обстоятельство – весомый довод против биотического происхождения космической органики и принципиальной возможности существования «межзвездной жизни». Принципиально важно, что концепция панспермии не дает ответа на вопрос о происхождении жизни и лишь отодвигает решение этой проблемы.

Креационизм – философско-теистическая концепция, объясняющая происхождение Вселенной, всех форм жизни и человека в частности актом сотворения сверхприродным Абсолютом (Творцом, Богом). Своим становлением креационизм обязан религиозным учениям о сотворении всего сущего Создателем. С другой стороны, его существование поддерживается наличием целого ряда научных фактов, объяснить которые, якобы, невозможно с точки зрения эволюционизма и естествознания. Современный креационизм представляет собой мощное направление философской и научной мысли. Положения креационизма разделяют, поддерживают и развивают множество известных ученых самых различных областей науки, объединенных в сообщества и имеющих свои сайты в сети Интернет: Разумный замысел, Шестоднев против эволюции, Общество креационной науки, Русское общество «Научный креационизм», Institute for Creation Research, Creation Science Movement, Creation-Evolution Encyclopedia, Creation Resource Foundation и т. д.

Наиболее нераскрытой проблемой современного естествознания представят соотношение жизни на всех этапах ее возникновения, становления, развития и законов термодинамики. Объединенная формулировка Первого и Второго начал термодинамики, предложенная немецким физиком и математиком R. Clausius (1865), гласит: «В любой замкнутой системе полная энергия остается постоянной, а полная энтропия с течением времени возрастает». Определение энтропии введено в понятийный аппарат естествознания также R. Clausius [12, 13] – это мера беспорядка системы, состоящей из множества элементов. Энтропия – мера отклонения реального процесса от идеального. Она является функцией состояния и остается постоянной при обратимых процессах, но всегда только возрастает при необратимых изменениях. Поэтому Второе начало термодинамики иногда называют законом неубывания энтропии. В естественных условиях самопроизвольные процессы могут протекать лишь при возрастании разупорядоченности, т. е. при увеличении энтропии. Поскольку в любой замкнутой системе энтропия непрерывно и необратимо возрастает, постольку со временем в такой системе, каковой является наша Вселенная, как конечный этап развития, исчезнет всякая структурированность и наступит «тепловая смерть».

Жизнь в противостоянии закону неубывания энтропии если и возможна, то обречена на жалкое оборонительное существование, исключаящее повышение

сложности ее организации. Поэтому дилемма, сформулированная R. Caillois: «Могут ли Карно и Дарвин быть правы?», которую приводит в своей книге лауреат Нобелевской премии И. Р. Пригожин [14], кажется не имеющей решения. Закон необывания энтропии, со всеми его вселенско-пессимистическими следствиями, создает массу трудностей для понимания мироустройства любым нормальным человеком. Энтропия, в рамках традиционной трактовки понятия, приобретает явные черты некоего Вселенского Зла, а обычное нормальное функционирование живых систем начинает восприниматься как глобальное противостояние сил Света и Тьмы. Поэтому некоторым естествоиспытателям Второе начало термодинамики видится как физическое воплощение Дьявола. Ну а поскольку в Мире все должно быть уравновешено, иметь свою противоположность, постольку в качестве антиэнтропийной альтернативы требуется (и предлагается) организующее начало в виде сверхприродного Всемогущества (Бога). Только проблема биогенеза с момента присутствия Творца переходит из сферы естествознания (науки) в область богословия (теологии). Именно трудности с пониманием природы движущей силы возникновения и эволюции живых систем при наличии несокрушимого (фундаментального) Второго начала термодинамики создают устойчивый базис персистенции и панспермии, и креационизма.

По современным представлениям наблюдаемая Вселенная возникла 13,7 миллиарда лет назад [15–18] в результате взрыва сингулярности. Почему произошел этот взрыв (формирование пространства, вмещающего все формы материи), пока неизвестно. Но уже в первый квант времени Планка, который равен  $10^{-43}$  секунды, обнаруженная плотность Вселенной составляла  $10^{94}$  г/см<sup>3</sup>, а температура —  $10^{32}$  К. С этого момента началось невообразимо быстрое расширение Вселенной (инфляция, формирование пространства Универсума). При этом увеличение объема мироздания закономерно (автоматически) за 0,3 секунды привело к снижению температуры среды с  $10^{32}$  К до  $10^{11}$  К — на двадцать один порядок. В результате резкого охлаждения Вселенной ее кварко-лептонная (фермионная) смесь начала структурироваться и в ней образовалось вещество: нейтрино, потом электроны и позитроны, а затем — протоны и нейтроны. При этом скорость образования протонов, как менее массивных частиц, превосходила темп появления нейтронов. С дальнейшим понижением температуры образование нуклонов (нейтронов и протонов) прекратилось, и с этого момента во Вселенной сохраняется стационарный уровень данных частиц. В настоящее время доля нейтронов составляет около 15%, а более 80% вещества Вселенной — протоны. В ходе последующего расширения Универсума и соответствующего снижения температуры происходило дальнейшее структурирование вещества — синтез легких химических элементов. К первым трем минутам существования Вселенная достигла стационарного уровня содержания ядер водорода и гелия. Ядра водорода составили 70% вещества мироздания, а ядра атомов гелия — 30%. Это соотношение уровней водорода и гелия и сегодня наблюдается в межгалактическом пространстве, межзвездной пыли галактик и звездах. Первоначальные неоднородности распределения в пространстве Универсума массы материи (вещества, темной материи, темной энергии) привели к возникновению в остывшем водородно-гелиевом газе гравитирующих центров звездообразования. Первое поколение звезд изначально могло состоять и состояло только из водорода и гелия. Однако в процессе ядерного синтеза гелия запасы водо-



рода в звездах исчерпываются, происходит их сжатие и разогрев до ста миллионов градусов. Это открывало новый канал ядерных реакций: слияние трех ядер гелия обеспечивало появление ядра углерода. По мере выгорания гелия сжатие звезд продолжалось до тех пор, пока температура не достигала уровня, необходимого для запуска реакции ядерного горения углерода. В массивных звездах этот процесс заканчивался образованием железа. После этого в звезде не остается ресурсов для ядерного горения, поддерживающего стабильность светила. Не поддерживаемая более ядерными реакциями внутренняя часть звезды коллапсирует, достигая невероятной плотности и температуры порядка десяти миллиардов градусов. Это приводит к взрыву, называемому вспышкой сверхновой, при котором все внешние слои звезды, содержащие синтезированные химические элементы, выбрасываются в межзвездное пространство. Химические элементы тяжелее железа образуются именно во время коллапса и взрыва ядра звезды. Обогащенный всеми элементами таблицы Менделеева межзвездный газ служит сырьем для образования новых звезд и планетных систем. Почти все известное вещество Макрокосма представлено в форме водорода и гелия, на долю более тяжелых элементов приходится менее двух процентов. Однако эти элементы исключительно важны для появления и эволюции биологических систем. Планета Земля состоит в основном из тяжелых химических элементов. Именно поэтому кембриджский астрофизик Martin Rees в интервью газете New York Times 26 апреля 1998 года со знанием дела констатировал: «We are the dust of long dead stars. Or, if you want, to be less romantic, we are nuclear waste» («Мы — пыль давно умерших звезд. Или, если менее романтично, мы — ядерные отходы»). Наше Солнце — звезда третьего поколения, следовательно, планеты Солнечной системы образовались из остатков звезд первого и второго поколений [19–29].

Если обратиться к вопросу геологической истории Земли, которая по современным представлениям насчитывает 4,54 миллиарда лет [30, 31], то оказывается, что более-менее крупные водоемы на ее остывающей поверхности появились через пятьсот-семьсот миллионов лет после формирования планеты из материала протопланетного облака [32–34]. И практически сразу же (в космологическом масштабе времени) в этих водоемах появились простейшие формы жизни. Об этом надежно свидетельствует соотношение изотопов углерода  $^{12}\text{C}$  и  $^{13}\text{C}$  в графитизированных сланцах из формации Isua в Гренландии (живые организмы избирательно поглощают легкий изотоп углерода) [35]. «Вскоре» появились и эукариотные микроорганизмы [36, 37].

Для возникновения жизни необходимо соблюдение определенных космических и планетарных условий:

- уровень радиации (радиоактивный фон планеты и космического излучения) не должен препятствовать зарождению и эволюции живых систем. В молодой Вселенной, с плотно расположенными галактиками и массивными звездами первого поколения, частые вспышки сверхновых, по-видимому, не оставляли шанса для сохранения жизни в случае ее появления;
- движение планеты вокруг звезды по круговой орбите (во избежание экстремальных перепадов плотности потока энергии, получаемой от светила);
- масса планеты не должна быть слишком большой (возможен перегрев планеты в результате распада природных радиоактивных изотопов химических элементов) или слишком маленькой (не сформируется атмосфера);

- наличие в составе поверхностного материала планеты всего перечня необходимых «строительных блоков» химических элементов и простых молекул (в период жизни звезд первого поколения данное условие не могло соблюдаться в принципе);
- присутствие на поверхности планеты жидкой воды (вода — универсальный растворитель, обеспечивающий абиотический синтез органических соединений и их полимеров, способствующий накоплению и обособлению исходного органического материала для формирования самовоспроизводящихся систем) и отсутствие в составе первичной атмосферы молекулярного кислорода, способного быстро окислить органические соединения;
- отсутствие жизни. Это положение впервые сформулировал Чарльз Дарвин. Будучи осторожным человеком и не желая вступать в конфликт с религиозной общественностью, он не публиковал своих догадок об этапе абиотического синтеза органических соединений как начальном шаге возникновения жизни. Однако в письме своему другу J. D. Hooker от 1 февраля 1871 года Ч. Дарвин писал: «...но если бы сейчас, ах какое большое если, в каком-либо теплом водоеме, содержащем все необходимые соли аммония и фосфора и доступном воздействию света, тепла, электричества и т. п., химически образовался белок, способный к дальнейшим, все более сложным превращениям, то это вещество немедленно было бы разрушено или поглощено, что было невозможно до появления живых существ» [38]. То есть живое в составе существующей биосферы происходит только от живого, и возможность повторного возникновения жизни исключена.

Схематично, суммируя имеющиеся в настоящее время представления, этапы возникновения жизни на Земле можно представить в следующем порядке:

- абиотический синтез простейших органических соединений (некоторые из них могли иметь асимметрический атом углерода, кремния, фосфора или серы), вероятно, происходивший с участием в процессе какой-то минеральной матрицы (например, глины), обеспечивавшей нарушение зеркальной симметрии процесса путем создания условий для получения преимущественно только определенных изомеров. В дальнейшем эти изомеры в качестве «хиральных вспомогательных молекул» могли обуславливать направленность синтеза других органических соединений, также обладавших асимметрическими атомами, что в итоге обеспечило хиральную чистоту биологических систем;
- абиотический синтез биополимеров (олигонуклеотидов, углеводов, полипептидов) из простейших мономеров (азотистых оснований, моносахаридов, аминокислот);
- обособление высокомолекулярных соединений в виде концентрированного раствора (возможно на минеральной матрице дна первичных водоемов);
- возникновение генетического кода и аппарата наследственности;
- увеличение обособления самовоспроизводящихся биологических систем от окружающей среды посредством бислойных липидных мембран;
- выделение трех главных клеточных линий живых организмов в процессе биогенеза/симбиогенеза — эубактерий, архебактерий и эукариот.

Критически важный качественный скачок в процессе биогенеза — абиотическое возникновение репликативных систем. Появление таких систем возможно при соблюдении следующих условий:

- изначальный репликативный полимер должен обладать совокупностью качеств, предполагающих и облегчающих возможность самокопирования;
- мономеры изначального репликативного полимера должны достаточно легко и в необходимом объеме синтезироваться и полимеризоваться абиотически;
- изначальный репликативный полимер должен отличаться широким спектром биохимической активности [39].

Этапы биогенеза выглядят вполне логично, но бездоказательно. И только в последние годы картина первых шагов зарождения Жизни стала наполняться содержанием — по мере получения экспериментальных подтверждений возможности и путей спонтанного структурирования неорганических, органических химических соединений в предбиологические и биологические системы. Общепринятыми становятся следующие представления:

- проблема биогенеза — проблема химического усложнения [40–42];
- абиотический синтез неорганических и органических химических соединений происходит не в надуманных модельных химических системах с участием четырех основных химических элементов (углерода, водорода, кислорода, азота), как считали А. И. Опарин и его последователи [43, 44], и возможным вовлечением в процесс серы [45] и/или фосфора [46], а в реальных сложных геохимических условиях. При рассмотрении вопросов абиотического синтеза неорганических и органических химических соединений необходимо учитывать роль широкого спектра химических элементов, включая микроэлементы [47–49];
- даже при эффективном функционировании всех эндогенных и экзогенных источников абиотических органических химических соединений [50] древние водоемы Земли представляли собой чрезвычайно разбавленный раствор [51]. В связи с этим важным аспектом проблемы биогенеза представляется процесс селекции и концентрирования органики посредством сорбции при взаимодействии водного раствора с минеральной матрицей (например, глиной) [52–54] или абсорбции при контакте с обратными мицеллами не смешивающихся с водой жидкостей [55–57];
- хиральная чистота как характеристическая черта биологических систем [58] могла сформироваться вследствие способности хиральных кристаллов эффективно дискриминировать определенные изомеры [59]. Примером такой хиральной кристаллической матрицы, чрезвычайно широко распространенной и эффективно катализирующей синтез олигомеров РНК, является глина [60–62];
- лабильность молекул РНК, спонтанно синтезируемых на поверхности минеральной матрицы, ограничена. Чем длиннее полимерная цепь, тем прочнее она фиксируется на поверхности минерала [63]. Однако глина обладает способностью ускорять образование липидных везикул из мицелл жирных кислот, поэтому микрочастицы глины, декорированные молекулами РНК, легко инкорпорируются в липидные везикулы [64];

- на минеральной поверхности сорбируются и без предварительной активации (фосфорилирования) полимеризуются аминокислоты, образуя полипептиды [65];
- на биогенез, безусловно, оказали влияние наличие и изменение градиентов (концентрации, температуры и т. п.), циклическое повторение условий в процессе смены дня и ночи, приливов и отливов, высыхания и увлажнения, замерзания и оттаивания.

Научная мысль по вопросам биогенеза все внимательнее рассматривает роль глины в процессах абиотического синтеза органических соединений и биополимеров, в формировании пред- и биологических систем. В связи с этим как не вспомнить религиозные учения о сотворении человека: «И Господь Бог создал человека из праха земли, и вдунул в его ноздри дыхание жизни, и человек стал живой душой» (Бытие. 2: 7), «Он – Тот, кто знает сокровенное и явное, великий, милосердный, который сделал прекрасным все сущее, что сотворил и сотворил в первый раз человека из глины» (Коран. Сура 32: 6–7).

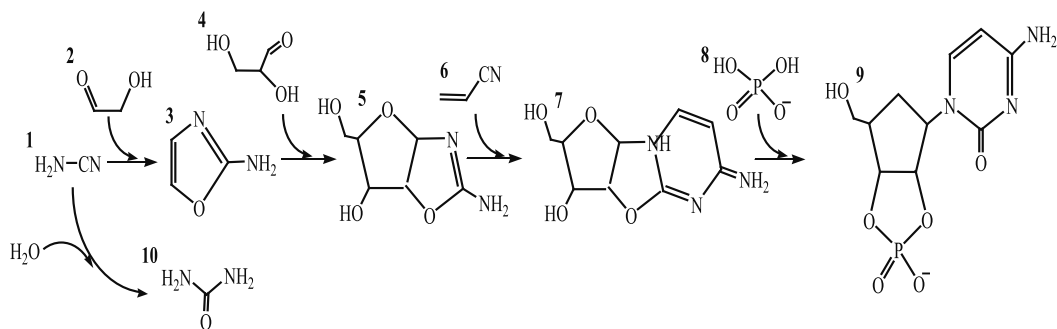
Постепенно накопился критический объем данных о свойствах РНК, и в 1986 году была сформулирована идея древнего безбелкового «мира РНК» как возможного предшественника биологической жизни [66]. Белковые молекулы лишены свойства и способности реплицироваться, поэтому появление новой парадигмы биогенеза было воспринято если не с воодушевлением, то с удовлетворением от того, что снимался вопрос, не имевший решения. Концепция «мира РНК» быстро приобрела многочисленных сторонников.

РНК представляет собой простейший аperiodический полимер, который по комплексу химических и биологических свойств соответствует всем требованиям, предъявляемым к изначальному репликативному полимеру:

- РНК, обладая свойством формировать сложные трехмерные структуры, способны выполнять роль энзимов (рибозимов), катализирующих множество химических и биохимических реакций [67–69];
- в современных биологических системах РНК выполняют критически важные функции, будучи ответственными за рибосомальную трансляцию мРНК в полипептидные цепи [70], созревание (процессинг пре-структур) РНаз и тРНК [71–73] и исполнение роли матрицы при увеличении длины теломера хромосом [74]. Рибосомы и другие рибозимы представляют собой, по-видимому, реликты «мира РНК», в котором роль доминирующих катализаторов играли не белки, а рибонуклеиновые кислоты [68, 75, 76].

Одной из трудных проблем концепции «мира РНК», заставлявшей сомневаться в соответствии реальности представлений о том, что РНК – первичный репликативный биологический полимер, было отсутствие доказательств возможности абиотического синтеза активированных мономеров РНК (пуринов и пиридинов). Однако в самые последние годы вопросы, казавшиеся не имеющими ответа, получили разрешение. В 2009 году М. W. Powner и соавт. элегантно продемонстрировали возможность абиотического синтеза пиримидиновых нуклеотидов – урацила и цитозина [77] (рис. 1).

Оказалось, что в смеси химических соединений, включающей неорганический фосфат, простейшие углеводы и азотистые соединения, эффективно синтезируются в большом количестве ключевые промежуточные продукты (не являющиеся ни сахарами, ни азотистыми основаниями), которые на рис. 1 обозначены как продукты конденсации 3 и 5. Все вещества исходной смеси вполне



**Рис. 1.** Абиотический синтез цитозина из простейших органических соединений: 1 – цианамид; 2 – гликольальдегид; 3 – продукт конденсации (2-аминооксазол); 4 – глицеральдегид; 5 – продукт конденсации (арабинозо-амино-оксазалин); 6 – цианоамид; 7 – арабинозо-ангидронуклеозид; 8 – фосфат; 9 – бета-рибозитидин-2',3'-циклофосфат (активированный рибонуклеотид); 10 – мочеви́на

могли существовать на ранней Земле. В этой химической системе фосфат катализирует синтез 2-аминооксазола, повышает выход арабинозо-амино-оксазолина, блокируя образование побочных продуктов, и, играя роль стабилизатора кислотности и «химического буфера», увеличивает выход арабинозо-ангидронуклеозида. Реакция фосфорилирования арабинозо-ангидронуклеозида катализируется мочевиной, в которую конвертируются излишки цианамида.

Вместе с «правильным» нуклеотидом цитидином в ходе реакций получается и целый ряд других, «неправильных» нуклеозидов и нуклеотидов, которые блокируют синтез «правильных» молекул РНК. Чистота конечного продукта абиогенного синтеза цитидина могла обеспечиваться каким-то естественным фактором, выполняющим функцию своеобразного химического сита. На роль такого фактора наиболее весомо претендует ультрафиолетовое облучение.

В первичной бескислородной атмосфере юной Земли отсутствовал слой озона, и поверхность планеты подвергалась интенсивному воздействию ультрафиолета. Именно ультрафиолет, по-видимому, обеспечивал в данной химической системе, в качестве конечного продукта, выход цитидина, разрушая все остальные неустойчивые к излучению «неправильные» нуклеозиды и нуклеотиды. При этом часть цитидина под влиянием ультрафиолета превращалась в уридин. Именно в силу устойчивости к ультрафиолетовому излучению цитидин и уридин из всех возможных пиримидиновых нуклеотидов вошли в состав РНК. Открытый британскими химиками путь абиогенного синтеза пиримидиновых нуклеотидов поражает своим изяществом и служит одним из весомых аргументов в пользу концепции естественного зарождения биологической жизни.

Вопрос абиотического синтеза пуринов (аденина, гуанина) получил разрешение при рассмотрении их в качестве продукта конденсации синильной кислоты [78]. (Почему-то сразу же возникает ассоциация со словами одного из голеевских героев: «Я тебя породил, я тебя и убью!») Появление синильной кислоты в качестве соединения-предшественника пуринов не отложило решение вопроса в более «долгий ящик». Наличие синильной кислоты в пребиотических условиях не проблема в силу того, что это соединение в значительных объемах могло синтезироваться на дне океанов в реакциях восстановления  $N_2$  и  $NH_3$  под

влиянием  $\text{CO}_2$  и  $\text{CH}_4$  [79] и при деградации аминокислоты тирозин в присутствии сульфидов переходных металлов [80]. К изложенному следует добавить, что убедительно продемонстрирована возможность спонтанной полимеризации 3',5-сАМФ и 3',5-сГМФ в водном растворе при умеренных геохимических условиях в отсутствие энзимов и неорганических катализаторов с образованием длинных (более 120 азотистых оснований) олигонуклеотидов [81], несущих (пре)генетическую информацию.

Представлялось, что критически важным событием на пути формирования простейших биологических систем было появление молекул РНК, способных реплицировать другие молекулы РНК (т. е. реплицировать РНК «геном») и синтезировать полипептиды из свободных аминокислот. Удивительно, но в модельных условиях селекции *in vitro* быстро спонтанно появляются рибозимы и с РНК-полимеразной активностью, обеспечивающие репликацию других РНК [82], и катализирующие синтез полипептидов [83]. Оказалось, что для синтеза полипептидов вполне достаточно олигонуклеотида-рибозима, цепочка которого состоит всего лишь из пяти остатков нуклеотидов. А трансфер всех возможных химических групп и кодирование информации о последовательности остатков аминокислот в полипептидных цепях может обеспечиваться смесью относительно небольших РНК [84].

И можно констатировать, что за 25 лет, прошедших с момента появления идеи «мира РНК», собраны очень убедительные доказательства существования этого мира в процессе биогенеза [85].

Эволюционные процессы в «мире РНК», по-видимому, протекали исключительно высокими темпами вследствие непрерывных спонтанных рекомбинаций, свободного латерального переноса молекул РНК между обособлениями (не отграниченных от внешней среды мембранами) через воду, воздух и экспоненциального обогащения всей популяции обособлений «лучшими» рибонуклеиновыми полимерами. Следующим шагом на пути биогенеза, вероятнее всего, было увеличение степени обособления представителей единого коммунального «мира РНК» от окружающей среды посредством бислойных липидных мембран, передача многих каталитических функций более эффективным полипептидам, трансформация РНК в ДНК, как более надежный специализированный носитель генетической информации. Трансфер функции носителя генетического кода от РНК к ДНК облегчался тем, что значительная часть генетического кода имеет стереохимическую основу. Триплеты изначально существовали и использовались в сайтах связывания транспортных РНК и в последующем, по-видимому, стали основой генетического кодирования аминокислот [86, 87]. Это обеспечило стабильность свойств биологических систем, но замедлило темп эволюции. Одним из инструментов ускорения эволюции стал латеральный перенос генетического материала. В качестве реликтов раннего биогенеза до настоящего времени остались плазмиды и вирусные частицы.

Первые биологические системы были автотрофными. Автотрофы резко расширили горизонт биосферы. И хотя жизнедеятельность фотосинтезирующих организмов началась почти четыре миллиарда лет назад, анаэробный период в развитии биосферы продолжался без малого два миллиарда лет [88–90]. Несмотря на наличие постоянного источника кислорода, атмосфера Земли оставалась практически бескислородной вследствие того, что биогенный кислород быстро связывался недоокисленными компонентами литосферы — железом и други-

ми металлами. Однако чуть больше двух миллиардов лет назад, в результате истощения доступных запасов акцепторов кислорода в земной коре и продолжающейся жизнедеятельности фотосинтезирующих микроорганизмов, содержание кислорода в атмосфере возросло до одного процента. Биосфера Земли как бы вывернулась наизнанку, стала преимущественно аэробной при сохранении мелких анаэробных экологических ниш. Это явление (событие) часто обозначают как «кислородная катастрофа» или «первый экологический кризис». Первый глобальный экологический кризис отличался шекспировским драматизмом, поставив всю анаэробную биоту перед гамлетовской дилеммой: «Быть или не быть».

Существовать в условиях оксигенированной биосферы могли только те биологические организмы, которые «обзавелись» эффективными механизмами защиты от токсического воздействия кислорода. Эти адаптационные механизмы по наследству достались и нам (ныне живущим аэробам). Кислород, по видимому, после достижения определенной концентрации в атмосфере, в силу его высокой химической активности, оказался мощным фактором ускорения биологической эволюции. И наиболее динамичным звеном биосферы стали эукариоты, вобравшие в себя в порядке симбиогенеза эволюционные достижения нескольких линий прокариот [91, 92]. Накопив в составе ДНК достаточный объем генетического материала, не кодирующего никаких белковых молекул, но способного экспрессировать регуляторные РНК, и таким образом перейдя на новый тип управления экспрессией генов, одноклеточные эукариоты быстро дали начало всему разнообразию сложнейших многоклеточных организмов на нашей планете [93, 94]. Уже «вскоре» после «кислородного кризиса» биосфера Земли обогатилась многоклеточными организмами [95].

Таким образом, данные современного естествознания неопровержимо свидетельствуют не только о перманентных количественных изменениях в ходе развития Вселенной (динамика масштабного фактора, температуры, плотности), но и о качественной структурной эволюции, характеризующейся возникновением новых, все более сложных форм упорядоченности материи. Твердо установленный научный факт, важнейший итог развития естествознания: уровень структурированности материи (вещества) во Вселенной со временем устойчиво повышается. При этом процесс эволюции Универсума путем последовательного достижения качественно новых уровней структурной упорядоченности вещества осуществляется таким образом, что каждая новая ступень возникает не сама по себе, а только на основе предыдущих, как их продолжение. В целом, при поверхностном взгляде, все это — особенно возникновение жизни и разума — производит впечатление явного нарушения Второго начала термодинамики. Однако эволюция Вселенной, биологическая эволюция предстают как естественные и, более того, закономерные явления (не нарушающие фундаментальных законов Природы), если рассматривать понятие энтропии не в свете представлений классической механики, а в рамках вероятностной трактовки.

Выдающуюся роль в углублении понимания Второго начала термодинамики сыграл Людвиг Больцман (1844–1906) — австрийский физик-теоретик, один из основоположников классической статистической физики. Непонятый и затравленный противниками кинетической теории газов Л. Больцман покончил с собой и похоронен в Вене. На его надгробном камне в качестве эпиграфии высечена формула энтропии:  $S = k \ln W$ .  $S$  — энтропия,  $k$  — постоянная

Больцмана,  $W$  — мера вероятности (число способов реализации состояния). Таким образом, величина энтропии определяется логарифмом числа микросостояний, посредством которых может быть осуществлено данное макросостояние. Следовательно, чем больше число микросостояний элементов структуры объекта и чем больше самих элементов входит в макроструктуру, тем больше энтропия данного образования. Неизбежность объединения элементарных частиц в устойчивые атомы, атомов в молекулы, молекул в живые системы (при наличии соответствующих условий) обусловлена именно возрастанием числа микросостояний составляющих их элементов (электроны в атоме могут занимать различные энергетические уровни и иметь определенную ориентацию спинов; в молекулах дополнительно могут осуществляться конформационные изменения; биологические системы усложняются в силу того, что чем больше количество структурных элементов организма, тем больше и число возможных их функциональных состояний, т. е. микросостояний).

Эволюция материального мира — внешнее проявление процесса увеличения энтропии. С законом неубывания энтропии, т. е. со Вторым началом термодинамики, связана и асимметрия времени. «Стрела времени» — тенденция системы эволюционировать в направлении более вероятного состояния с более высокой энтропией путем естественного перехода в наиболее устойчивую структурную упорядоченность при существующих условиях.

Развитие в Природе происходит в соответствии с диалектической цепочкой: накопление количественных изменений — возникновение новых условий — формирование нового уровня структурной упорядоченности (нового качества), обладающего наибольшей энтропией (устойчивостью) в данных условиях. Уровни (ступени) структурной упорядоченности материи (вещества) в процессе эволюции неразрывно связаны и соотносятся так, что каждый из них представляет собой базис накопления количественных изменений, создающих условия для перехода к следующей иерархической ступени. Такая эволюционная открытость (незавершенность) процесса структурной упорядоченности материи (вещества) обеспечивает (предоставляет) принципиальную возможность перехода разума (как проявления структурной упорядоченности) к следующему, еще более высокоорганизованному состоянию материи, обладающему большей энтропией. И вполне возможно допущение, что носителем следующего за разумом уровня структурированности материи будут не биологические системы.

Появление в процессе эволюции Вселенной химических элементов, неорганических и органических химических соединений, биомакромолекул, простейших и более сложных форм жизни никак не связано с нарушением Второго начала термодинамики, поскольку на каждом этапе структурирования вещества и биогенеза обеспечивается возрастание энтропии. Более того, появление жизни во Вселенной предопределено при наличии благоприятных условий в силу положительной динамики уровня энтропии в процессе биогенеза. Именно поэтому жизнь на Земле в космологическом масштабе времени появилась практически мгновенно, как только для этого сложились условия. Возникновение и эволюция биологических систем — одно из наглядных (но трудно замечаемых) проявлений возрастания энтропии. С удовлетворением следует согласиться с философской глубиной поэтически оформленной мысли М. В. Волькенштейна: «...в смене звездных поколений лишь энтропия — жизнь и свет» [96].



## Литература

1. *Keosian J.* The crisis in the problem of the origin of life // Origin of life. — Tokyo, 1978. — 575 p.
2. *Гивишвили Г. В.* Есть ли у естествознания альтернатива богу? // Вопросы философии. — 1995. — № 2. — С. 37–47.
3. *Chadwick A. V.* Abiogenic origin of life: a theory in crisis. (2005, on line publication at: <http://origins.swau.edu/papers/life/chadwick/default.html>).
4. *Шипов Г. И.* Теория физического вакуума. Теория, эксперименты и технологии. — М.: Наука, 1997. — 450 с.
5. *Акимов А. Е.* Физика признает Сверхразум // Чудеса и приключения. — 1996. — № 5. — С. 24–27.
6. *Волченко В. Н.* Принятие Творца современной наукой // Сознание и физическая реальность. — 1997. — № 2 (1). — С. 1–7.
7. *Ажажа В. Г.* Контуры философской парадигмы // Философские науки. — 2001. — № 3. — С. 87–104.
8. *Parker G.* Creation: facts of life — how real science reveals the hand of God. — Master Books, Green Forest, 2006. — 160 p.
9. *Лепешинская О. Б.* Происхождение клетки из живого вещества. Стенограмма публичной лекции, прочитанной в Центральной лектории Общества в Москве. — М.: Правда, 1951. — 40 с.
10. *Richter H. E.* Zur Darwinschen Lehre // Schmidts Jahrbucher Ges. Med. — 1865. — Vol. 126. — P. 243–249.
11. *Арпенуц С.* Образование миров / Пер. с нем.; под ред. К. Д. Покровского. — Одесса: Матезис, 1908. — 200 с.
12. *Clausius R.* Uber die Warmleitung gas-formiger Korper // Annalen der Physik. — 1865. — Vol. 125. — P. 353–400.
13. *Clausius R.* The mechanical theory of heat — with its applications to the steam-engine and to physical properties of bodies. — London: John van Voorst. 1 Paternoster Row. MDCCCLXVII (Taylor and Francis). — 376 p.
14. *Prigogine I., Stengers I.* Order out of chaos: man`s new dialogue with nature. — N. Y.: Bantam Books, 1984. — 349 p.
15. *Bennett C. L., Halpern M., Hinshaw G. et al.* First year Wilkinson microwave anisotropy probe (WMAP) observations: preliminary maps and basic results // Astrophys. J. Suppl. Series. — 2003. — Vol. 148 (1). — doi: 10.1086/377226.
16. How old is the Universe? WMAP can measure the age of the Universe. [http://map.gsfc.nasa.gov/universe/uni\\_age.html](http://map.gsfc.nasa.gov/universe/uni_age.html).
17. *Weintraub D. A.* How old is the Universe? — Princeton: Princeton University Press, 2011. — 370 p.
18. *Jarosik N., Bennett C. L., Dunkley J. et al.* Seven-Year Wilkinson anisotropy probe (WMAP) observations: sky maps, systematic errors, and basic results // Astrophys. J. Suppl. Series. — 2011. — Vol. 192 (2). — doi: 10.1088/0067-0049/192/2/14.
19. *Chaisson E. J.* Cosmic evolution. The rise of complexity in Nature. — Cambridge: Harvard University Press, 2001. — 274 p.
20. *Малоун Дж.* Нераскрытые тайны природы. — М.: Мир, 2004. — 232 с.
21. *Хван М. П.* Неистовая Вселенная. От Большого взрыва до ускоренного расширения. От кварков до суперструн. — СПб.: Ленанд, 2006. — 411 с.

22. Горбунов Д. С., Рубаков В. А. Введение в теорию ранней Вселенной. Теория горячего Большого взрыва. — М.: URSS, 2008. — 543 с.
23. Ишханов Б. С., Капитонов И. М., Тутынь И. А. Нуклеосинтез во Вселенной. — СПб.: Либроком, 2009. — 208 с.
24. Кирьянов В. И. Описание фазовых состояний Вселенной через фундаментальные постоянные. — М.: Либроком, 2009. — 16 с.
25. Лютко М. Г. Физика материи островной Метагалактики. — М.: Либроком, 2009. — 155 с.
26. Горбунов Д. С., Рубаков В. А. Введение в теорию ранней Вселенной. Космологические возмущения. Инфляционная теория. — М.: Красанд, 2010. — 568 с.
27. Теерикорпи П., Вальтонен М., Лехто К. Эволюция вселенной и происхождение жизни. — СПб.: Эксмо, 2010. — 640 с.
28. Вайнберг С. Первые три минуты: Пер. с англ. — М.: Эксмо, 2011. — 208 с.
29. Брисноватый-Коган Г. С. Релятивистская астрофизика и физическая космология. — М.: Красанд, 2011. — 376 с.
30. Manhes G., Allegre C. J., Dupre B., Hamelin B. Lead isotope study of basic-ultra-basic layered complexes: speculations about the age of the Earth and primitive mantle characteristics // *Earth Planet. Sci.* — 1980. — Vol. 47 (3). — P. 370–382.
31. Dalrymple G. B. The age of the Earth in the twentieth century: a problem (mostly) solved. // *Geological Society of London Special Publications.* — 2001. — Vol. 190. — P. 205–211.
32. Wilde S. A., Valley J. W., Peck W. H., Graham C. M. Evidence from detrital zircons for the existence of continental crust and ocean on the Earth 4.4 Gyr ago // *Nature.* — 2001. — Vol. 409 (6817). — P. 175–178.
33. Малахов В. В. Великий симбиоз: происхождение эукариотной клетки // *В мире науки.* — 2004. — Vol. 2. — P. 70–79.
34. Cavosie A. J., Wilde S. A., Walley J. W. Magmatic  $^{18}\text{O}$  in 4400–3900 Ma detrital zircons: a record of the alteration and recycling of crust in the Early Archean Earth Planet // *Sci. Lett.* — 2005. — Vol. 235 (3–4). — P. 663–681.
35. Ueno Y., Yurimoto H., Yoshioka H. et al. Ion microprobe analysis of graphite from ca. 3.8 Ga metasediments, Isua supracrustal belt, West Greenland: relationship between metamorphism and carbon isotopic composition // *Geochim. Cosmochim. Acta.* — 2002. — Vol. 66 (7). — P. 1257–1268.
36. Tappan H. Possible eukaryotic algae (Bangiopticidae) among early // *Proterozoic microfossils GSA // Bulletin.* — 1976. — Vol. 87 (4). — P. 633–639.
37. Javaux E. J., Marshall C. P., Bekker A. Organic-walled microfossils in 3,2-billion-year-old shallow-marine siliciclastic deposits // *Nature.* — 2010. — Vol. 463 (7283). — P. 934–938.
38. Darwin C. R. Letter to J. D. Hooker, Feb. 1. 1871. — Letter 7471. — Darwin Correspondence Project.
39. Cheng L. K. L., Unrau P. J. Closing the circle: replicating RNA with RNA // *Cold. Spring. Harb. Perspect. Biol.* — 2010. — Vol. 2 (10). — P. a002204.
40. Lahav N. Biogenesis: theories of life's origins. — N. Y.: Oxford University Press, 1999. — 368 p.
41. Hazen R. M. Genesis: the scientific quest for life's origin. — Washington, DC: Joseph Henry Press, National Academy of Science, 2005. — 339 p.
42. Zaikowski L., Friedrich J. M. (eds.) Chemical evolution across space and time // *Am. Chem. Soc. Symp. Series.* — 2007. — Vol. 981. — P. 1–430.

43. Опарин А. И. Происхождение жизни. — М.: АН СССР, 1957. — 458 с.
44. Morowitz H. J., Kostelnik J. D., Yang J., Cody C. D. The origins of intermediary metabolism // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2000. — Vol. 97 (14). — P. 7204–7708.
45. Wachtershauser G. Evolution of the first metabolic cycles // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1990. — Vol. 87 (1). — P. 200–204.
46. Kornberg A., Rao N. N., Ault-Riche D. Inorganic polyphosphate: a molecule of many functions // Annu. Rev. Biochem. — 1999. — Vol. 68. — P. 89–125.
47. McSween H. Y., Richardson S. M., Uhle M. Geochemistry: pathways and processes. — N. Y.: Columbia University Press, 2003. — 363 p.
48. Steele J. H., Thorpe S. A., Turekian K. K. (eds.) Encyclopedia of ocean sciences. — Burlington, MA: Elsevier, 2009. — 6 vol.
49. Hazen R. M., Sverjensky D. A. Mineral surfaces, geochemical complexities, and the origin of life // Cold. Spring. Harb. Perspect. Biol. — 2010. — Vol. 2. — P. a002162.
50. Chyba C. F., Sagan C. Endogenous production, exogenous delivery, and impact-shock synthesis of organic molecules: an inventory for the origins of life // Nature. — 1992. — Vol. 355 (6356). — P. 125–132.
51. Chon C. A., Hansson T. K., Larssen H. S. et al. Fate a prebiotic adenine // Astrobiology. — 2001. — Vol. 1 (4). — P. 477–480.
52. Ferris J. P. Mineral catalysis and prebiotic synthesis: montmorillonite-catalyzed formation of RNA // Elements. — 2005. — Vol. 1 (3). — P. 145–149.
53. Hashizume H., van der Gaast S., Theng B. K. G. Adsorption of adenine, cytosine, uracil, ribose, and phosphate by MG-exchanged montmorillonite // Clay Minerals. — 2010. — Vol. 54 (4). — P. 469–475.
54. Hashizume H., Teng B. K. G. Adenine, adenosine, ribose and 5'-AMP adsorption to allophane // Clays and Clay Minerals. — 2007. — Vol. 55 (6). — P. 599–605.
55. Tuck A. The role of atmospheric aerosols in the origin of life // Surveys Geophys. — 2002. — Vol. 23 (5). — P. 379–409.
56. Monnard P. A., Apel C. L., Kanavariotti A., Deamer D. W. Influence of ionic inorganic solutes on self-assembly and polymerization processes related to early forms of life: implications for a prebiotic aqueous medium // Astrobiology. — 2002. — Vol. 2 (2). — P. 139–152.
57. Monnard P. A., Ziock H. Eutectic phase in water-ice: a self-assembled environment conducive to metal-catalyzed non-enzymatic RNA-polymerization // Chem. Biodivers. — 2008. — Vol. 5 (8). — P. 1521–1539.
58. Nelson D. L., Cox M. M. Lehninger's principles of biochemistry. — 4<sup>th</sup> ed. — N. Y.: Worth Publisher, 2004. — 1120 p.
59. Hazen R. M., Sholl D. S. Chiral selection on inorganic crystalline surfaces // Nature Mater. — 2003. — Vol. 2 (6). — P. 367–374.
60. Ferris J. P., Hill A. R. Jr., Liu R., Orgel L. E. Synthesis of long prebiotic oligomers on mineral surfaces // Nature. — 1996. — Vol. 381 (6577). — P. 59–61.
61. Ertem G., Ferris J. P. Template-directed synthesis using the heterogeneous templates produced by montmorillonite catalysis: a possible bridge between the prebiotic and RNA worlds // J. Am. Chem. Soc. — 1997. — Vol. 119 (31). — P. 7197–7201.
62. Ertem G., Hazen R. M., Snellinger A. M. et al. Sequence- and region-selective formation of RNA-like oligomers by montmorillonite catalysis // Int. J. Astrobiol. — 2008. — Vol. 7. — P. 1–7.
63. Orgel L. E. Polymerization on the rocks: theoretical introduction // Orig. Life Evol. Biosph. — 1998. — Vol. 28 (3). — P. 227–234.

64. Hanczyc M. M., Fujikawa S. M., Szostak J. W. Experimental models of primitive cellular compartments: encapsulation, growth, and division // *Science*. — 2003. — Vol. 302 (5645). — P. 618–622.
65. Lambert J. F. Adsorption and polymerization of amino acids on mineral surfaces: a review // *Orig. Life Evol. Biosph.* — 2008. — Vol. 38 (3). — P. 211–242.
66. Gilbert W. Origin of life: the RNA world // *Nature*. — 1986. — Vol. 319 (6065) — P. 618.
67. Wilson D. S., Szostak J. W. In vitro selection of functional nucleic acids // *Annu. Rev. Biochem.* — 1999. — Vol. 68. — P. 611–647.
68. Ellington A. D., Chen X., Robertson M., Syrett A. Evolutionary origins and directed evolution of RNA // *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* — 2009. — Vol. 41 (2) — P. 254–265.
69. Muller U. F. Evolution of ribozymes in an RNA world // *Chem. Biol.* — 2009. — Vol. 16 (8). — P. 797–798.
70. Nissen P., Hansen J., Ban N. et al. The structural basis of ribosome activity in peptide bond synthesis // *Science*. — 2000. — Vol. 289 (5481). — P. 920–930.
71. Pannucci J. A., Haas E. S., Hall T. A. et al. RNase P RNAs from some Archaea are catalytically active // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 1999. — Vol. 96 (4). — P. 7803–7808.
72. Marquez C. M., Chen J. L., Evans D., Pace N. R. Structure and function of eukaryotic Ribonuclease P RNA // *Mol. Cell*. — 2006. — Vol. 24 (3). — P. 445–456.
73. Tucker B. J., Breaker R. R. Riboswitches as versatile gene control element // *Curr. Opin. Struct. Biol.* — 2005. — Vol. 15 (3). — P. 342–348.
74. Qido F., Cech T. R. Triple-helix structure in telomerase RNA contributes to catalysis // *Nat. Struct. Mol. Biol.* — 2008. — Vol. 15 (6). — P. 634–640.
75. Orgel L. E. Prebiotic chemistry and the origin of the RNA world // *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* — 2004. — Vol. 39 (2). — P. 99–123.
76. Chen X., Li N., Ellington A. D. Ribozyme catalysis of metabolism in the RNA world // *Chem. Biodivers.* — 2007. — Vol. 4 (4). — P. 633–655.
77. Powner M. W., Gerland B., Sutherland J. D. Synthesis of activated pyrimidine ribonucleotides in prebiotically plausible conditions // *Nature*. — 2009. — Vol. 459 (7244). — P. 239–242.
78. Roy D., Najafin K., von Rague Scheyer P. Chemical evolution: the mechanism of the formation of adenine under prebiotic conditions // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 2007. — Vol. 104 (44). — P. 17272–17277.
79. Holm N. G., Neubeck A. Reduction of nitrogen compounds in oceanic basement and its implications for HCN formation and abiotic organic synthesis // *Geochem. Transactions*. — 2009. — Vol. 10. — P. 9. — doi: 10.1186/1467-4866-10-9.
80. McGlynn S. E., Beard T. E., Broderic J. B., Peters J. W. Life's origins: potential for radical cyanide production on the early // *Earth. J. Cosmology*. — 2010. — Vol. 10. — P. 3315–3324.
81. Constanzo G., Pino S., Ciciriello F., Mauro E. D. Generation of long RNA chains in water // *J. Biol. Chem.* — 2009. — Vol. 284 (48). — P. 33206–33216.
82. Wochner A., Attwater J., Coulson A., Holliger P. Ribozyme-catalyzed transcription of an active ribozyme // *Science*. — 2001. — Vol. 332 (6026) — P. 209–212.
83. Turk R., Chumachenko N. V., Yarus M. Multiple translational products from a five-nucleotide ribozyme // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 2010. — Vol. 107 (10). — P. 4585–4589.
84. Yarus M., Widmann J. J., Knight R. RNA-amino acid binding: a stereochemical era for the genetic code // *J. Mol. Evol.* — 2009. — Vol. 69 (5) — P. 406–429.

85. *Yarus M.* Getting past the RNA world: the initial Darwinian ancestor // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* — 2011. — Vol. 3. — P. a003590.
86. *Yarus M., Caporaso J. G., Knight R.* Origins of the genetic code: the escaped triplet theory // *Annu. Rev. Biochem.* — 2005. — Vol. 74. — P. 179–198.
87. *Rodin A. S., Szathmary E., Rodin S. N.* On origin of genetic code and tRNA before translation // *Biol. Direct.* — 2001. — Vol. 6. — P. 14. — doi: 10.1186/1745-6150-6-14.
88. *Kump L. R., Barley M. E.* Increased subaerial volcanism and the rise of atmospheric oxygen 2,5 billion years ago // *Nature.* — 2007. — Vol. 448 (7157). — P. 1033–1036.
89. *Zahnle K.* Atmospheric chemistry: her dark materials // *Nature.* — 2008. — Vol. 454 (7200). — P. 41–42.
90. *Scott C. T., Bekker A., Reinhard C. T. et al.* Late Archean euxinic conditions before the rise of atmospheric oxygen // *Geology.* — 2011. — Vol. 39 (2). — P. 119–122.
91. *Lake J. A.* Evidence for an early prokaryotic endosymbiosis // *Nature.* — 2009. — Vol. 460 (7258). — P. 967–971.
92. *Rivera M. C., Lake J. A.* The ring of life: evidence for genome fusion origin of eukaryotes // *Nature.* — 2004. — Vol. 431 (7005). — P. 152–155.
93. *Mattic J. S.* The hidden genetic program of complex organisms // *Sci. Am.* — 2004. — Vol. 291 (4). — P. 60–67.
94. *Mattic J. S.* The functional genomics of noncoding RNA // *Science.* — 2005. — Vol. 309 (5740). — P. 1527–1528.
95. *El Albani A., Bengston S., Canfield D. E. et al.* Large colonial organisms with coordinated growth in oxygenated environments 2.1 Gyr ago // *Nature.* — 2010. — Vol. 466 (7302). — P. 100–104.
96. *Волькенштейн М. В.* Энтропия и информация. — М.: Наука, 1986. — 192 с.

## 1.2. КИСЛОРОД И НЕФЕРМЕНТАТИВНОЕ ОКИСЛЕНИЕ

Кислород — один из самых распространенных химических элементов планеты и самый распространенный элемент биосферы. Соединения кислорода входят в состав биомакромолекул всех живых организмов. Для высших форм жизни чрезвычайно важен молекулярный кислород, четырехэлектронное восстановление которого — основа биоэнергетики животных и человека. Но наряду с окислительным фосфорилированием в аэробных организмах постоянно протекают реакции частичного восстановления кислорода — образования активных форм и радикалов данного окислителя. Кислородные радикалы химически весьма активны, и некоторые из них способны ковалентно модифицировать структуру любой макромолекулы. Вторая половина XX столетия и начало XXI века отмечены пристальным вниманием специалистов медико-биологического профиля к процессам продукции прооксидантов и неферментативного окисления в биологических системах как в условиях нормального функционирования, так и при формировании патологических состояний. По различным аспектам проблемы опубликовано множество работ, в том числе и обзорного характера. Вместе с тем следует отметить, что в силу сложности и многогранности химии/биохимии активных форм и радикалов кислорода система общих и частных представлений о биохимических механизмах функционирования про- и антиоксидантных систем организма человека в условиях нормы и патологии все еще

находится в стадии формирования. В рамках рассматриваемой проблемы пока нет устоявшейся, общепринятой терминологии, не всегда известны критически важные биомешены свободнорадикальной атаки и не всегда понятна патогенетическая значимость неферментативного окисления, а попытки фармакологической профилактики и коррекции проявлений оксидативного стресса часто недостаточно эффективны [1–4]. Исходя из этого и предпринята попытка систематизированного изложения современных представлений о свободнорадикальных окислительных процессах в организме, путях и средствах антиоксидантной защиты.

Молекулярный кислород (диоксиген,  $O_2$ ) обладает уникальной электронной конфигурацией. Принято считать, что свободные радикалы представляют собой молекулы (фрагменты молекул), обладающие одним (или более) неспаренным электроном [5], постольку  $O_2$  в основном триплетном состоянии, имея два параллельных неспаренных электрона, представляет собой бирадикал [6]. Однако, несмотря на бирадикальную природу, молекулярный кислород — относительно инертное химическое соединение, обладающее парамагнитными свойствами, что и накладывает спиновый запрет на его внедрение в диамагнетики (органические соединения) [7]. И такая ограниченная химическая реактивность кислорода, проявляющаяся в том, что для его активации требуется определенное количество энергии, очень важна для оптимального протекания биосинтетических и биоэнергетических процессов [8]. Теория валентных связей описывает молекулу кислорода как два атома, объединенные двойной связью ( $O=O$ ), однако теория молекулярных орбиталей предписывает бирадикалу тройную связь ( $^*O\equiv O^*$ ), что лучше объясняет его высокую реакционную способность с другими свободными радикалами [9]. Кроме основного триплетного состояния, молекула кислорода может пребывать в двух синглетных формах ( $^1\Delta_g$  и  $^1\Sigma^+_g$ ), энергия которых превышает энергию основного состояния на 23,4 и 37,5 ккал/моль соответственно. В течение чрезвычайно короткого отрезка времени  $^1\Sigma^+_g$  в биологических системах спонтанно конвертируется в форму  $^1\Delta_g$ , которая и является для них основной. При потере, присоединении одного или двух электронов молекула триплетного кислорода трансформируется в диоксиген-катион, супероксидный анион-радикал или пероксид-анион соответственно (рис. 2).

Для взаимодействия триплетного кислорода с органическими соединениями, имеющими заполненные орбитали, необходима высокая энергия активации. Относительная кинетическая стабильность триплетного кислорода объясняется конфигурацией плотностей электронной оболочки — наличием параллельных спинов у электронов в основном состоянии, заполняющих  $\pi^*$ -орбиталь. Предпочтительными субстратами для такой формы кислорода являются атомы и молекулы, также имеющие электроны с параллельными спинами на валентном энергетическом уровне. Поскольку пары валентных электронов у большинства молекул имеют антипараллельные спины, постольку активность молекулярного кислорода снижена в силу термодинамического запрета на присоединения первого электрона. Присоединение второго электрона не имеет термодинамического барьера, поскольку происходит полное заполнение  $\pi^*$ -орбитали [6, 11–13], поэтому кислород, будучи бирадикалом, энергично взаимодействует с органическими радикалами, имеющими неспаренный электрон. Эта реакция играет важную роль в живых организмах для продолжения и развития цепных радикальных процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ).

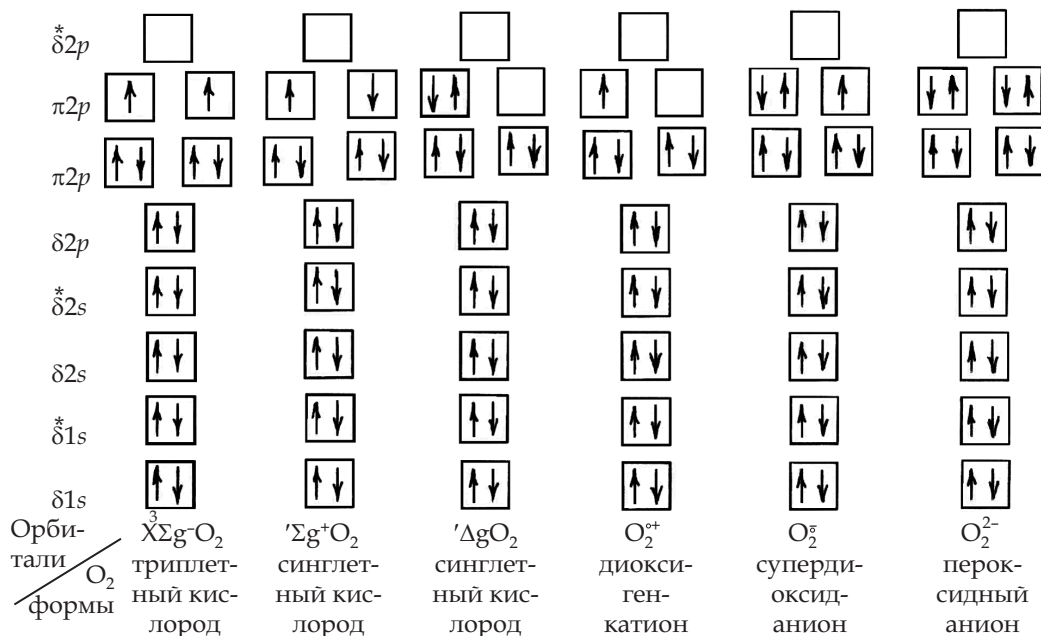


Рис. 2. Различные состояния молекулярного кислорода [10]

Реакции ПОЛ протекают, главным образом, в липидном бислое клеточных мембран [14–18].

При взаимодействии свободного кислородного радикала с органическим соединением в зависимости от значения и величины окислительно-восстановительного потенциала первого может наблюдаться несколько типов реакций, но результатом всегда будет появление нового радикала.

1. Радикал может ковалентно связываться с органическим соединением. Например, гидроксильный радикал ( $\cdot OH$ ) присоединяясь к позиции 8 в цикличе-

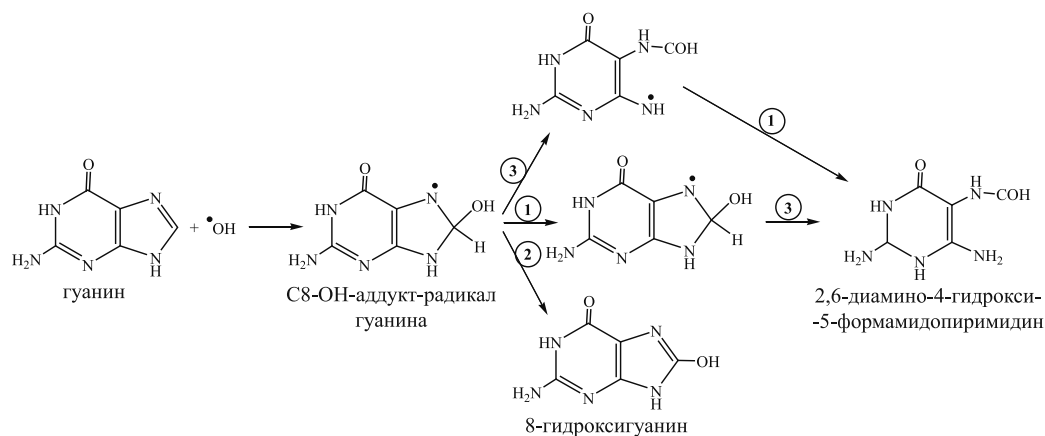


Рис. 3. Взаимодействие гидроксильного радикала с гуанином и структура продуктов трансформации С8-ОН-аддукт-радикала гуанина [10]: 1 – восстановление; 2 – окисление; 3 – разрыв кольца

ской структуре гуанина ДНК, образует 8-гидрокси-2'-деоксигуанозин-радикал (рис. 3); подобным же образом гидроксильный радикал может атаковать и другие азотистые основания, дезоксирибозу цепей ДНК, формируя тяжелые повреждения генома и внегеномной части наследственного аппарата [19–21].

2. Некоторые радикалы способны выступать в качестве доноров электронов, т. е. восстановителей. В частности, токсические свойства параквата (PQ) обусловлены его одноэлектронным восстановлением до радикала паракват-катиона в клеточных электрон-транспортных цепях и последующим восстановлением данным радикалом кислорода до супероксид-радикала (рис. 4).

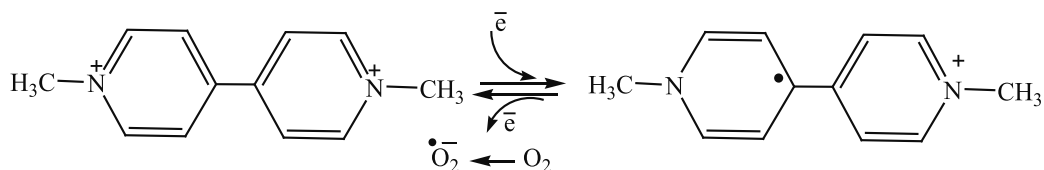
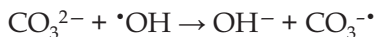


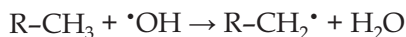
Рис. 4. Мультициклическое одноэлектронное восстановление/окисление параквата

Подвергаясь мультициклическому восстановлению, паракват «катализирует» продукцию супероксидного анион-радикала и тем самым индуцирует оксидативный стресс [22–26].

3. Свободные радикалы, отбирая один электрон от химического соединения, могут инициировать реакции окисления, т. е. быть окислителями. При этом химическое соединение изначально нерадикальной природы, теряя электрон, превращается в свободный радикал. Например, гидроксильный радикал способен окислить карбонат-ион, трансформируя его в карбонат-радикал [27]:



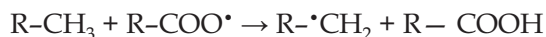
4. Некоторые радикалы способны разорвать связь С–Н и присоединить к себе атом водорода, оставляя на углероде неспаренный электрон. Например, гидроксильный радикал может легко оторвать атом водорода от углеводородной цепочки полиненасыщенных жирных кислот биологических мембран [28]:



Процесс ПОЛ принято подразделять на три стадии: зарождение (инициирование) цепей окисления, развитие (продолжение и разветвление) цепных реакций и обрыв цепей [29]. Стадия инициирования свободнорадикального окисления липидов биомембран в качестве основных событий представлена разрушением связи углерод-водород, отрывом атома водорода от жирнокислотной цепи и его присоединением к свободному радикалу-прооксиданту, появлением углерод-центрированного липидного радикала. В качестве прооксидантов, т. е. инициаторов реакций неферментативного окисления, могут выступать любые свободные радикалы-окислители, обладающие значением стационарного окислительно-восстановительного потенциала (ОВП) +1,0 В и более, поскольку данный показатель самих липидов составляет +0,6 В [30]. Далее следуют процессы стадии развития (продолжения и ветвления) цепных реакций. Триплетный

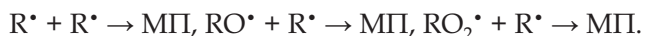


кислород как бирадикал очень быстро взаимодействует с липидным радикалом, образуя пероксильный радикал  $\text{ROO}^\bullet$  [9]. Величина стационарного ОВП пероксил-радикалов, в зависимости от химической природы углеводородной цепи жирных кислот, составляет от +0,77 В до +1,44 В (в среднем +1,0 В) [31]. Поскольку ОВП самих липидов составляет примерно +0,6 В [32], постольку вновь появившийся пероксил-радикал, обладая окислительно-восстановительным потенциалом порядка +1,0 В, способен быстро присоединить к себе атом водорода от другой жирной кислоты, превращаясь в гидропероксид и порождая тем самым новый радикал:



Вновь образовавшийся углерод-центрированный радикал, присоединяя молекулу кислорода, продолжает цепь реакций самовоспроизведения свободных радикалов и образования гидроперекисей липидов. Если полиненасыщенная жирная кислота (например, арахидоновая) отличается достаточно длинной углеводородной цепью, пероксил-радикал, извлекая водород из нее самой, может образовывать циклические пероксиды (например, изопростаны) [33]. Изопростаны — неклассические эйкозаноиды, уровень которых в биосредах организма тесно коррелирует со степенью выраженности оксидативного стресса [34], обладающие провоспалительными свойствами и способностью усиливать болевую перцепцию [35].

Таким образом, единственный иницирующий свободный радикал способен образовать в липидной мембране посредством цепной реакции множество липидных пероксидов. Отщепление протона от полиненасыщенной жирной кислоты может произойти на различных участках ее углеводородной цепи, поэтому при свободнорадикальном окислении арахидоновой кислоты потенциально может образоваться шесть линейных (алифатических) и несколько циклических пероксидов [36], изопростанов [37]. Часть образующихся радикалов  $\text{R}^\bullet$ ,  $\text{RO}^\bullet$ ,  $\text{ROO}^\bullet$  рекомбинирует с выходом неактивных молекулярных продуктов (МП), тем самым обрывая реакции свободнорадикального окисления:

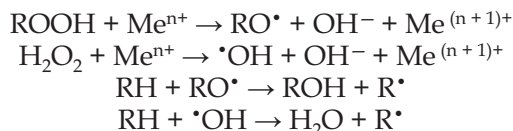


Но при взаимодействии двух пероксидных радикалов образуется синглетный кислород или тетроксидный интермедиат, которые способны иницировать образование новых радикалов [1, 38]:

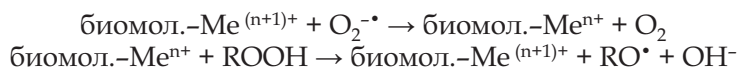


Скорость продолжения свободнорадикальных цепных реакций ассоциирована со значением величины энергии диссоциации различных углерод-водородных связей, входящих в структуру липидов. Наименьшей энергией диссоциации обладает С-Н-связь в бис-аллильной позиции (75–80 ккал/моль), а в аллильной и алкильной позициях величина энергии диссоциации данной связи значительно больше (88 и 101 ккал/моль соответственно) [32, 39, 40]. И это объясняет, почему в условиях оксидативного стресса *in vitro* и *in vivo* в первую очередь исчезают полиненасыщенные жирные кислоты, а уровень содержания насыщенных жирных кислот часто не претерпевает изменений [41].

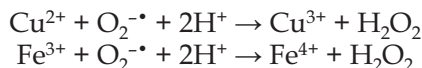
Возникающие при неферментативном окислении липидов гидропероксиды (ROOH), а также пероксид водорода ( $H_2O_2$ ), как продукт дисмутации супероксид-радикала, в присутствии ионов  $Fe^{2+}$ ,  $Cu^+$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Ti^{3+}$ ,  $V^{2+}$ , т. е. частично восстановленных ионов металлов переменной валентности ( $Me^{n+}$ ), включаются в процесс генерации дополнительных органических радикалов, обеспечивая разветвление цепей окисления путем образования высоко реакционно-способного алкоксильного радикала  $RO\cdot$  или гидроксильного радикала  $\cdot OH$  [1, 36, 42, 43]:



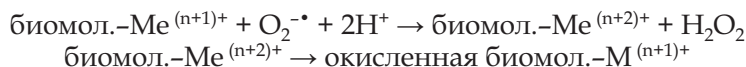
В биологических системах при оксидативном стрессе как факторы стимуляции свободнорадикальных реакций наиболее значимы ионы железа и меди [44–48]. Уровень ионов переходных металлов в биологических средах контролируется исключительно тщательно и поддерживается на чрезвычайно низком уровне — порядка  $10^{-18}$  М [49, 50]. Ионы железа и меди, для уменьшения вероятности их участия в продукции прооксидантов, удерживаются в составе биомолекул и обычно находятся в окисленном состоянии в виде  $Fe^{3+}$  и  $Cu^{2+}$ . Предполагается, что, даже находясь в биокомплексах, ионы металлов переменной валентности, после предварительного восстановления, все же способны катализировать реакцию Габера–Вейса и образование алкоксильного радикала [10]. При этом роль восстановителя ионов переходных металлов может выполнять и обычно выполняет супероксид-радикал [51–53]:



Более того, супероксидный анион-радикал может выступать в качестве прекурсора  $Cu^{3+}$  и  $Fe^{4+}$  [43, 54–56]:



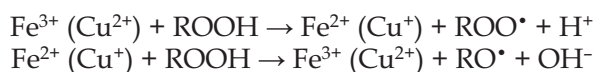
Оба эти катиона представляют собой мощные прооксиданты, способные, в частности, вызывать повреждения и той биомолекулы, в составе которой они образовались:



В биологических средах при нейтральном значении pH величина окислительно-восстановительного потенциала  $Fe^{3+}$  составляет +0,772 В [57], что заметно превышает ОВП остатков полиненасыщенных жирных кислот фосфолипидов биологических мембран (+0,6 В) [58] и, следовательно, ионы Fe (III) обладают возможностью инициировать свободнорадикальные реакции:



Кроме того, окисленные формы ионов переходных металлов экспоненциально ускоряют неферментативное окисление, обеспечивая образование пероксильного радикала при декомпозиции гидропероксидов [59, 60]:

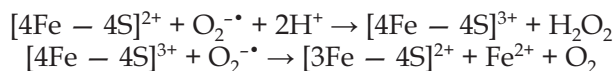


Каталитическая активность ионов железа в биологических средах (впервые внимание специалистов на данный аспект проблемы перекисидации было обращено только в 1982 году [61]) ограничивается их чрезвычайно низкой растворимостью в воде ( $10^{-17}$  моль/л) при физиологических значениях величины рН и биохимическими механизмами гомеостатирования катионов переходных металлов. В биологических жидкостях большая часть  $\text{Fe}^{3+}$  преципитируется в виде гидроксидов железа [62]. Часть  $\text{Fe}^{3+}$  хелатируется цитратом или фосфатами (АТФ, АДФ, ГТФ), сохраняя каталитическую активность [63] в силу того, что один или несколько из шести лигандов иона железа могут легко покидать комплекс (диссоциировать) [64].

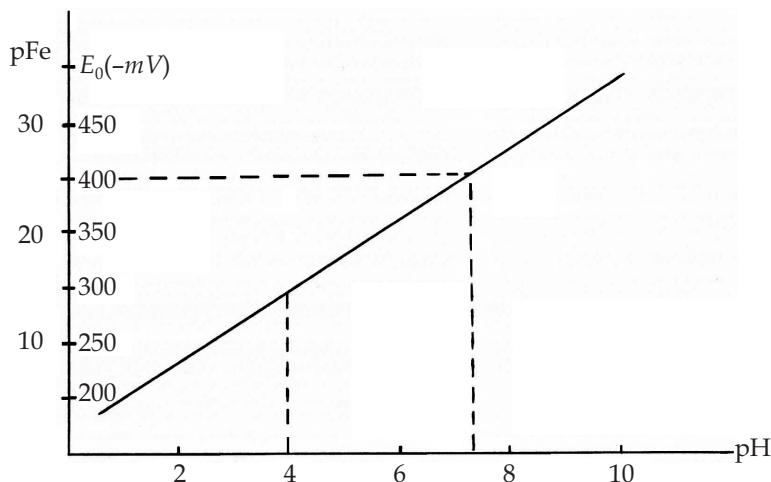
Подобным же образом проявляет себя «классический» гидрофильный комплексон ионов железа дефероксамин и вновь разработанный Fe-хелатирующий агент LK-614 — добавление данных препаратов в кардиоплегический раствор сопровождалось усилением ишемического повреждения миокарда [65]. Известно, что в диапазоне значений окислительно-восстановительного потенциала от +0,46 В до -0,16 В хелатированные ионы двухвалентного железа способны катализировать реакцию Габера-Вейса [66] в силу того, что супероксидный анион-радикал при данных обстоятельствах приобретает способность восстанавливать  $\text{Fe}^{3+}$  до  $\text{Fe}^{2+}$  [67]. Более того, в данных условиях в качестве редуцирующих ионы трехвалентного железа агентов могут выступать глутатион и аскорбиновая кислота [68], а катионы двухвалентного железа не удерживаются в составе комплексных соединений. И хотя величина ОВП Fe/дефероксамин (трансферрин) при физиологических условиях составляет -477 мВ (-500 мВ) [69], данный показатель и параметры стабильности комплексных соединений рFe (рFe =  $-\lg[\text{Fe}]$ ) находятся в сильной зависимости от величины значений рН: при значении рН около 4,0 величина ОВП комплексонов возрастает на 100 мВ, а доступность ионов железа увеличивается на десять порядков [66, 69-74] (рис. 5).

По-видимому, это значимо при состояниях, сопровождающихся локальным либо метаболическим ацидозом, потому что при рН 5,4 трансферрин, например, полностью освобождается от ионов железа [75].

Восстанавливая ионы железа супероксидный анион-радикал способствует высвобождению  $\text{Fe}^{2+}$  не только из трансферрина и ферритина [76], но и из ферментов, содержащих железо-серные центры (кластеры)



Кроме того,  $\text{H}_2\text{O}_2$ -индуцированные и  $\text{NO}^\bullet$ -опосредованные модификации структуры медь- и железосодержащих протеинов также способствуют лабильности ионов металлов переменной валентности [76, 77]. Помимо прочего, утрата ионов железа энзимами, участвующими в энергопродукции и метаболизме

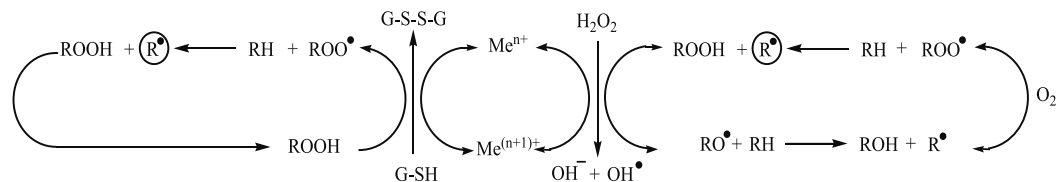


**Рис. 5.** Окислительно-восстановительный потенциал ( $E_0$ ), стабильность (pFe) комплексов ионов железа ( $Fe^{3+}$ ) и гидроксамовых сидерофоров (в том числе десферала) как функция величины pH

аминокислот, сопровождается потерей специфической активности и соответствующими нарушениями функций.

Появление в биосредах ионов переходных металлов в несвязанном виде представляет собой качественно новое, опасное состояние биологической системы. В присутствии восстановленных ионов химических элементов переменной валентности формируется своеобразный «реактор» редокс-катаболической продукции свободных радикалов, и в частности чрезвычайно токсичного гидроксильного радикала (рис. 6).

Кроме того, обогащение биосред ионами железа трансформирует их бактериостатическую природу в культуральную среду, стимулирующую вегетирование вирулентной микрофлоры [78]. Например, вирулентность *Pseudomonas aeruginosa* в присутствии ионов железа может увеличиваться на пять порядков [79]. В условиях оксидативного стресса содержание ионов железа увеличивается не только в межклеточных жидкостях, но и в цитозоле клеток в зоне воспалительной реакции. В физиологических условиях для поддержания предельно низкого уровня свободных катионов железа в цитозоле эффективно функционирует механизм экспорта  $Fe^{3+}$  из клетки, обеспечиваемый ферропортином. Именно



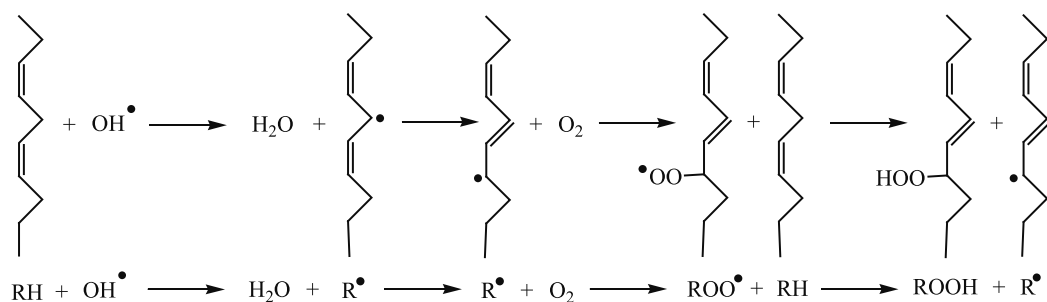
**Рис. 6.** Каталитическая амплификация свободных радикалов и продукция гидроксильного радикала:  $R^\bullet$  – новый радикал; G-SH – восстановленный глутатион;  $HO^\bullet$  – гидроксильный радикал G-S-S-G – окисленный глутатион;  $Me^{n+}$   $Me^{(n+1)+}$  – редокс-состояние иона переходного металла

активность ферропортина резко ограничивает внутриклеточное вегетирование патогенов [80]. Однако на фоне оксидативного стресса механизм гомеостатирования железа в клетках в зоне воспаления может давать сбой. Под влиянием провоспалительных медиаторов в гепатоцитах, эпителиоцитах стимулируется экспрессия полипептида гепцидина [81, 82]. Поступив во внеклеточную среду, гепцидин быстро и необратимо связывается с ферропортином цитоплазматической мембраны клеток, инициирует интернализацию и последующую деградацию ферропортин-гепцидинового комплекса в лизосомах [83, 84] и тем самым блокирует экспорт ионов железа из цитозоля, создавая благоприятные условия для внутриклеточного вегетирования микроорганизмов.

Таким образом, для протекания свободнорадикальных реакций в биологической системе (рис. 7) необходимыми и достаточными можно считать следующие условия:

- образование активных форм и радикалов кислорода ( $^1\text{O}_2$ ,  $\text{O}_2^{\cdot-}$ ,  $\cdot\text{OH}$ );
- наличие субстратов окисления (полиненасыщенные жирные кислоты);
- присутствие в среде молекулярного кислорода ( $\text{O}_2$ );
- наличие в среде ионов металлов переменной валентности ( $\text{Me}^{n+}$ ).

В конечном итоге неконтролируемая пероксидация липидов проявляется снижением текучести мембран, облегчением перехода молекул фосфолипидов из одного монослоя мембран в другой, увеличением проницаемости мембран для различных субстанций ( $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  и т. д.), ковалентной модификацией и изменением функциональной активности мембранных протеинов, рецепторов, энзимов и ионных каналов [36]. Возрастание уровня цитозольного  $\text{Ca}^{2+}$  в условиях оксидативного стресса сопровождается увеличением активности фосфолипазы  $\text{A}_2$  и, как следствие, высвобождением арахидоновой кислоты из мембранных фосфолипидов. Свободная арахидоновая кислота может как подвергаться свободнорадикальной деградации [85], так и использоваться в качестве субстрата в процессе синтеза эйкозаноидов. Синтез простагландинов тесно связан с пероксидацией липидов не только в силу возрастания доступности арахидоновой кислоты, но и по причине стимуляции активности циклооксигеназ под влиянием липидных пероксидов [86]. Лизофосфолипиды (продукт энзиматической активности фосфолипазы  $\text{A}_2$ ), обладая детергентными свойствами, при накоплении до определенного уровня могут полностью дезинтегрировать мембраны [87].



**Рис. 7.** Иницирование и продолжение цепи неферментативного окисления липидов:  $\text{RH}$  – субстрат окисления;  $\text{ROO}^{\cdot}$  – перекисный радикал;  $\cdot\text{OH}$  – гидроксильный радикал;  $\text{ROOH}$  – органический пероксид;  $\text{R}^{\cdot}$  – свободный радикал

Интенсивное свободнорадикальное окисление полиненасыщенных жирных кислот фосфолипидов биомембран, сопровождающееся фрагментацией пероксидов и выделением альдегидов, низкомолекулярных углеводов (например, этана, пентана и т. п.), потенциально может привести к потере целостности мембран. И это чревато последствиями: диссипацией электрохимического потенциала на внутренней митохондриальной мембране (прекращение энергопродукции), выделением в цитозоль гидролитических энзимов лизосом. Кроме того, некоторые из продуктов перекисидации полиеновых жирных кислот оказывают выраженное цитотоксическое действие. К таким продуктам относятся изопростаны, уровень которых в биологических средах увеличивается при многих патологических состояниях, в том числе при отравлениях, и отражает интенсивность процессов ПОЛ в организме [33, 37, 88], а также различные альдегиды и эпоксиды (малоновый диальдегид, 4-гидрокси-2-алкенали, 2-алкенали) (рис. 8).



Рис. 8. Вторичные токсичные продукты перекисидации липидов

Приведем пример: 4-гидрокси-2-транс-ноненаль, обладая способностью ковалентно взаимодействовать с протеинами и дезоксирибонуклеиновыми кислотами, ингибирует специфическую активность различных ферментов, ионных каналов, рецепторов и индуцирует мутагенные эффекты [28, 89, 90]. В частности, увеличение вероятности возникновения дефектов развития плода в определенные периоды беременности на фоне оксидативного стресса, индуцированного вирусной инфекцией, алкогольной интоксикацией и т. п., по-видимому, связано с ковалентной модификацией альдегидами и кетонами гистонов хроматина (хромосом), т. е. с нарушением эпигенетической регуляции экспрессии генов.

## Литература

1. Halliwell B. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? // *J. Neurochem.* — 2006. — Vol. 97 (6). — P. 1634–1658.
2. Steinhubl S. R. Why have antioxidants failed in clinical trials? // *Am. J. Cardiol.* — 2008. — Vol. 101 (10A). — P. 14D–19D.
3. Skholnik K., Tadmor A., Ben-Dor S. et al. Reactive oxygen species are indispensable in ovulation // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2011. — Vol. 108 (4). — P. 1462–1467.
4. Tuxworth R. I., Chen H., Vivancos V. et al. The Batten disease gene CLN3 is required for the response to oxidative stress // *Hum. Mol. Genet.* — 2011. — Vol. 20 (10). — P. 2037–2047.
5. Winterbourn C. C. Superoxide as an intracellular radical sink // *Free Rad. Biol. Med.* — 1993. — Vol. 14 (1). — P. 85–90.

6. Miller D. M., Buettner G. R., Aust S. D. Transition metals as catalysts of «autoxidation» reactions // *Free Rad. Biol. Med.* – 1990. – Vol. 8 (1). – P. 95–100.
7. Prabhakar R., Siegbahn P. E. M., Minaev B., Agren H. Activation of triplete dioxygen by glucose oxidase: spin-orbit coupling in the superoxide ion // *J. Phys. Chem.* – 2002. – Vol. 106 (14). – P. 3742–3750.
8. Sawyer D. *Oxygen Chemistry.* – N. Y.: Oxford University, 1991. – 236 p.
9. Symons M. C. R. *Chemical and biochemical aspects of electron-spin resonance spectroscopy.* – N. Y.: J. Wiley, 1978. – 190 p.
10. Valko M., Izakovic M., Mazur M. et al. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence // *Mol. Cell. Biochem.* – 2004. – Vol. 266 (1–2). – P. 37–56.
11. Bard A. J., Parsons R., Jordan J. *Standard potentials in aqueous solutions.* – N. Y.: IUPAC. Marcel Dekker, 1985. – 834 p.
12. Wood P. M. The potential diagram for oxygen at pH 7 // *Biochem. J.* – 1988. – Vol. 253 (1). – P. 287–289.
13. Wardman P. Reduction potentials of one-electron couples involving free radicals in aqueous solution // *J. Phys. Chem. Ref. Data.* – 1989. – Vol. 18 (4). – P. 1637–1755.
14. Spiteller G. The relation of lipid peroxidation processes with atherogenesis: a new theory on atherogenesis // *Mol. Nutr. Food Res.* – 2005. – Vol. 49 (11). – P. 999–1013.
15. Muller F. L., Lustgarten M. S., Jong Y. et al. Trends in oxidative aging theories // *Free Radic. Biol. Med.* – 2007. – Vol. 43 (4). – P. 477–503.
16. Spiteller G. Is lipid peroxidation of polyunsaturated acids the only source of free radicals that induce aging and age-related diseases? // *Rejuvenation Res.* – 2010. – Vol. 13 (1). – Vol. 91–103.
17. Trantow C. M., Hardberg-Buenz A., Iwashita S. et al. Elevated oxidative membrane damage associated with genetic modifiers of LYST-mutant phenotypes // *PLoS Genet.* – 2010. – Vol. 6 (7). – P. e1001008. Doi: 10.1371/journal.pgen.1001008.
18. Catala A. Lipid peroxidation of membrane phospholipids in the vertebrate retina // *Front. Biosci.* – 2011. – Vol. S3. – P. 52–60.
19. Kasai H. Chemistry-based studies on oxidative DNA damage: formation, repair, and mutagenesis // *Free Radic. Biol. Med.* – 2002. – Vol. 33 (4). – P. 450–456.
20. Evans M. D., Dizdaroglu M., Cooke M. S. Oxidative DNA damage and disease: induction, repair and significance // *Mutat. Res.* – 2004. – Vol. 567 (1). – P. 1–61.
21. Kamiya H. Mutagenicity of oxidized DNA precursors in living cells: roles of nucleotide pool sanitization and DNA repair enzymes, and translesion synthesis DNA polymerases // *Mutat. Res.* – 2010. – Vol. 703 (1). – P. 32–36.
22. Fukushima T., Yamada K., Isobe A. et al. Mechanism of cytotoxicity of paraquat. I. NADH oxidation and paraquat radical formation via complex I // *Exp. Toxicol. Pathol.* – 1993. – Vol. 45 (5–6). – P. 345–349.
23. Yamada K., Fukushima T. Mechanism of cytotoxicity of paraquat. II. Organ specificity of paraquat-stimulated lipid peroxidation in the inner membrane of mitochondria // *Exp. Toxicol. Pathol.* – 1993. – Vol. 45 (5–6). – P. 375–380.
24. Fukushima T., Yamada K., Hojo N. et al. Mechanism of cytotoxicity of paraquat. III. The effects of acute paraquat exposure on the electron transport system in rat mitochondria // *Exp. Toxicol. Pathol.* – 1994. – Vol. 46 (6). – P. 437–441.
25. Ptzedborski S., Ischiropoulos H. Reactive oxygen and nitrogen species: weapons of neuronal destruction in models of Parkinson`s disease // *Antioxid. Redox Signal.* – 2005. – Vol. 7 (5–7). – P. 685–693.

26. Moran J., Ortiz-Ortiz M. A., Ruiz-Mesa L. M., Fuentes J. M. Nitric oxide in paraquat-mediated toxicity: a review // *J. Biochem. Mol. Toxicol.* – 2010. – Vol. 26 (6) – P. 402–409.
27. Augusto O., Bonini M. G., Amanso A. M. et al. Nitrogen dioxide and carbonate radical anion: two emerging radicals in biology // *Free Radic. Biol. Med.* – 2002. – Vol. 32 (9) – P. 841–859.
28. Catala A. Lipid peroxidation of membrane phospholipids generates hydroxyalkenals and oxidized phospholipids active in physiological and/or pathological conditions // *Chem. Phys. Lipids.* – 2009. – Vol. 157 (1). – P. 1–11.
29. Burcham P. C. Genotoxic Lipid peroxidation products: their DNA damaging properties and role in formation of endogenous DNA adducts // *Mutagenesis.* – 1998. – Vol. 13 (3). – P. 287–305.
30. Min B., Ahn D. U. Mechanism of lipid peroxidation in meat and meat products – a review. // *Food Sci. Biotechnol.* – 2000. – Vol. 14 (1). – P. 152–163.
31. Valko M., Rhoaders C. J., Moncol J. et al. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer // *Chem.-Biol. Interact.* – 2006. – Vol. 160 (1). – P. 1–40.
32. Koppenol W. H. Oxyradical reactions: from bond-dissociation energy to reduction potential // *FEBS Lett.* – 1990. – Vol. 264 (2). – P. 165–167.
33. Fam S. S., Morrow J. D. The isoprostanes: unique products of arachidonic acid oxidation – a review // *Curr. Med. Chem.* – 2003. – Vol. 10. – P. 1723–1740.
34. Basu S. Bioactive eicosanoids: role of prostaglandin F (2 $\alpha$ ) and F<sub>2</sub> isoprostanes in inflammation and oxidative stress related pathology // *Mol. Cells.* – 201. – Vol. 30 (5). – P. 383–391.
35. Evans A. R., Junger H., Southall M. D. et al. Isoprostanes, novel eicosanoids that produce nociception and sensitize rat sensory neurons // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2000. – Vol. 293 (3). – P. 912–920.
36. Halliwell B., Gutteridge J. M. C. Free radicals in biology and medicine. – 4<sup>th</sup> ed. – Oxford: Oxford University Press, 2006. – 851 p.
37. Morrow J. D. Quantification of isoprostanes as indices of oxidant stress and the risk of atherosclerosis in humans // *Atheroscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2005. – Vol. 25 (2). – P. 279–286.
38. Miyamoto S., Martinez G. R., Medeiros M. H., Di Mascio P. Singlet molecular oxygen generated from lipid hydroperoxides by the Russell mechanism: studies using 18 (0)-labeled linoleic acid hydroperoxide and monomol light emission measurements // *J. Am. Chem. Soc.* – 2003. – Vol. 125 (20). – P. 6172–6179.
39. Wagner B. A., Buettner G. R., Burns C. P. Free radical-mediated lipid peroxidation in cells: oxidizability is a function of cell lipid bis-allylic hydrogen content // *Biochem.* – 1994. – Vol. 33 (15). – P. 4449–4453.
40. Buettner G. R. The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, alpha-tocopherol, and ascorbate // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1993. – Vol. 300 (2). – P. 535–543.
41. Sevanian A., Hochstein P. Mechanism and consequences of lipid peroxidation in biological systems // *Annu. Rev. Nutr.* – 1985. – Vol. 5. – P. 365–390.
42. Valko M., Morris H., Cronin M. T. Metals, toxicity and oxidative stress // *Curr. Med. Chem.* – 2005. – Vol. 12 (10). – P. 1161–1208.
43. Jomova K., Valko M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease // *Toxicol.* – 2011. – Vol. 283 (2–3). – P. 65–87.



44. Reddy S., Halliwell B., Jones A. D., Longhurst J. C. The use of phenylalanine to detect hydroxyl radical production *in vivo*: a cautionary note // *Free Rad. Biol. Med.* – 1999. – Vol. 27 (11–12). – P. 1465–1465.
45. Halliwell B., Clement M. V., Ramalingam J., Long L. H. Hydrogen peroxide. Ubiquitous in cell culture and *in vivo*? // *IUBMB Life.* – 2000. – Vol. 50 (4–5). – P. 251–257.
46. Kadiiska M. B., Mason R. P. *In vivo* copper-mediated free radical production: an ESR spin-trapping study // *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectr.* – 2002. – Vol. 58 (6) – P. 1227–1239.
47. Cheng F. C., Jen J. F., Tsai T. H. Hydroxyl radical in living systems and its separation methods // *J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* – 2002. – Vol. 781 (1–2). – P. 481–496.
48. Yang F., Zhang R. P., He J. M., Abbiz Z. The generation, trapping and detection methods of hydroxyl radical // *Yao Xue Xue Bao.* – 2007. – Vol. 42 (7). – P. 692–697.
49. Williams R. J. P. Free manganese (II) and iron (II) cations can acts as intracellular controls // *FEBS Lett.* – 1982. – Vol. 140 (1). – P. 3–10.
50. Crichton R. R. Inorganic biochemistry of iron metabolism: from molecular mechanisms to clinical consequences. – N. Y.; Chichester: J. Wiley, 2001. – 355 p.
51. Buettner G. R., Jurkiewicz B. A. Catalytic metals, ascorbate and free radicals: combination to avoid // *Rad. Res.* – 1996. – Vol. 145 (5). – P. 532–541.
52. Prousek J. Fenton chemistry in biology and medicine // *Pure Appl. Chem.* – 2007. – Vol. 79 (12). – P. 2325–2338.
53. Barbusinski K. Fenton reaction – controversy concerning the chemistry // *Ecol. Chem. Engineering.* – 2009. – Vol. 16 (3). – P. 347–358.
54. Klug-Roth D., Rabani J. Pulse radiolytic studies on reaction of aqueous superoxide radicals with copper (II) complexes // *J. Phys. Chem.* – 1976. – Vol. 80 (6). – P. 588–591.
55. Stohs S. J., Bagchi D. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal-ions // *Free Rad. Biol. Med.* – 1995. – Vol. 18 (2). – P. 321–336.
56. Jomova K., Vondrakova D., Lawson M., Valko M. Metals, oxidative stress and neurodegenerative disorders // *Mol. Cell. Biochem.* – 2010. – Vol. 345 (1–2). – P. 91–104.
57. Thauer R., Jungermann K., Decker K. Energy conservation in chemotrophic anaerobic bacteria // *Bacteriol. Rev.* – 1977. – Vol. 41 (1). – P. 100–180.
58. Lee J., Koo N., Min D. B. Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. // *CRFSFS.* – 2004. – Vol. 3 (1). – P. 21–33.
59. Min D. B. Lipid oxidation of edible oil. In: *Food lipids: chemistry, nutrition, and biotechnology* C. C. Akoh, D. B. Min (eds.). – N. Y.: Marcel Dekker, 1998. – P. 283–296.
60. Papas A. M. Diet and antioxidant status Antioxidant status, diet, nutrition, and health. Papas A. M. (ed.). – Boca Raton, Fla., CRC Press, 1999. – P. 89–105.
61. Gutteridge J. M. C., Rowley D. A., Halliwell B. Superoxide-dependent formation of hydroxyl radicals and lipid peroxidation in the presence of iron salts: detection of «catalytic» iron and anti-oxidant activity in extracellular fluids // *Biochem. J.* – 1982. – Vol. 203 (3). – P. 605–609.
62. Lippard S. J., Berg J. M. (eds.) *Principles of bioorganic chemistry.* – Mill Valley, CA.: University Science Books, 1994. – 411 p.
63. Gutteridge J. M. C. Superoxide-dependent formation of hydroxyl radicals from ferric complexes and hydrogen peroxide: an evaluation of fourteen iron chelators // *Free Radic. Res. Commun.* – 1990. – Vol. 9 (2). – P. 119–125.

64. Graf E., Mahoney J. R., Bryant R. G., Eaton J. W. Iron-catalyzed hydroxyl radical formation. Stringent requirement for free iron coordination site // *J. Biol. Chem.* – 1984. – Vol. 259 (6). – P. 3620–3624.
65. Koch A., Loganatan S., Radovits T. et al. Deferoxamine, the newly developed iron chelator LK-614 and N- $\alpha$ -acetyl-histidine in myocardial protection // *Interact. CardioVasc. Torac. Surg.* – 2010. – Vol. 10 (2). – P. 181–184.
66. Boukhalfa H., Crumbliss A. L. Chemical aspects of siderophore mediated iron transport. – 2002. – Vol. 15 (4). – P. 325–339.
67. Geisser P. (ed.) Iron therapy with special emphasis on oxidative stress. – Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 1996. – 142 p.
68. Mies K. A., Wirgau J. I., Crumbliss A. L. Ternary complex formation facilitates a redox mechanism for iron release from a siderophore // *Biometals.* – 2006. – Vol. 19 (2). – P. 115–126.
69. Spasojevic I., Armstrong S. K., Brickman T. J., Crumbliss A. L. Electrochemical behavior of the Fe (III) complex of the cyclic hydroxamate siderophores alcaligin and desferrioxamine E // *Inorg. Chem.* – 1999. – Vol. 38 (3). – P. 449–454.
70. Schwarzenbach G., Schwarzebbach K. Hydroxamatkomplexe, I. Die Stabilität der Eisen (III)-Komplexe einfacher Hydroxamsäure und des Ferrioxamins B // *Helv. Chim. Acta.* – 1963. – Vol. 46. – P. 1390–1400.
71. Wirgau J. I., Spasojevic I., Boukhalfa H. et al. Thermodynamics, kinetics, and mechanism of the stepwise dissociation and formation of Tris (L-lysinehydroxamato) iron (III) in aqueous acid // *Inorg. Chem.* – 2002. – Vol. 41 (6). – P. 1464–1473.
72. Dhungana S., Miller M. J., Dong L. et al. Iron chelation properties of an extracellular siderophore exochelin MN // *J. Am. Chem. Soc.* – 2003. – Vol. 125 (25). – P. 7654–7663.
73. Dhungana S., Harrington J. M., Gebhardt P. et al. Iron chelation equilibria, redox, and siderophore activity of a saccharide platform ferrichrome analogue // *Inorg. Chem.* – 2007. – Vol. 46 (20). – P. 8362–8371.
74. Brausam A., Maigut J., Meier R. et al. Detailed spectroscopic, thermodynamic, and kinetic studies on the protolytic equilibria of Fe (III)cytda and the activation of hydrogen peroxide // *Inorg. Chem.* – 2009. – Vol. 48 (16). – P. 7864–7884.
75. Янковский О. Ю. Токсичность кислорода и биологические системы (эволюционные, экологические и медико-биологические аспекты). – СПб.: ИГРА, 2000. – 294 с.
76. Gutteridge J. M. Iron promoters of the Fenton reaction and lipid peroxidation can be released from haemoglobin by peroxides // *FEBS Lett.* – 1994. – Vol. 201 (2). – P. 291–295.
77. Swain J. A., Darley-Usmar V., Gutteridge J. M. Peroxynitrite release copper from caeruloplasmin: implications for atherosclerosis // *FEBS Lett.* – 1994. – Vol. 342 (1) – P. 49–52.
78. Freestone P., Sandrini S., Haigh R., Lyte M. Microbial endocrinology: how stress influences susceptibility to infection // *Trends Microbiol.* – 2008. – Vol. 16 (2). – P. 55–64.
79. Forsberg C. M., Bullen J. J. The effect of passage and iron on the virulence of *Pseudomonas aeruginosa* // *J. Clin. Pathol.* – 1972. – Vol. 25 (1). – P. 65–68.
80. Paradkar P. N., De Domenico I., Durchfort N. et al. Iron depletion limits intracellular bacterial growth in macrophages // *Blood.* – 2008. – Vol. 112 (3). – P. 866–974.

81. Van Eijk L. T., Kroot J. J. C., Tromp M. et al. Inflammation-induced hepcidin-25 is associated with the development of anemia in septic patients: an observation study // *Crit. Care.* – 2001. – Vol. 15 (1). – P. R9.
82. Arnold J., Sangwaiya A., Mangam V. et al. Presence of hepcidin-25 in biological fluids: bile, ascetic and pleura fluids // *World J. Gastroenterol.* – 2010. – Vol. 16 (17) – P. 2129–2133.
83. Munoz M., Villar I., Garcia-Erce J. A. et al. An update on iron physiology // *World J. Gastroenterol.* – 2009. – Vol. 15 (37). – P. 4617–4626.
84. Gnana-Prakasam J. P., Martin P. M., Mysona B. A. et al. Hepcidin expression in mouse retina and its regulation via lipopolysaccharide/Toll-like receptor-4 pathway independent of Hfe // *Biochem. J.* – 2008. – Vol. 411 (1) – P. 79–88.
85. Farooqui A. A., Ong W. Y., Lu X. R. et al. Neurochemical consequences of kainite-induced toxicity in brain: involvement of arachidonic acid release and prevention of toxicity by phospholipase A (2) inhibitors // *Brain Res. Brain Res. Rev.* – 2001. – Vol. 38 (1–2). – P. 61–78.
86. Smith W. L. Cyclooxygenases, peroxide tone and the allure of fish oil // *Curr. Opin. Cell Biol.* – 2005. – Vol. 17 (2). – P. 174–182.
87. Nigam S., Schewe T. Phospholipase A (2)s and lipid peroxidation // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2000. – Vol. 1488 (1–2). – P. 167–181.
88. Tang D. G., La E. H., Kern J., Kehrer J. P. Fatty acid oxidation and signaling in apoptosis. // *Biol. Chem.* – 2002. – Vol. 383 (3–4). – P. 425–442.
89. Esterbauer H., Schaur R. J., Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes // *Free Radic. Biol. Med.* – 1991. – Vol. 11 (1). – P. 81–128.
90. Mark R. J., Lovell M. A., Markesbery W. R. et al. A role for 4-hydroxynonenal, an aldehydic product of lipid peroxidation, in disruption of ion homeostasis and neuronal death induced by amyloid beta-peptide // *J. Neurochem.* – 1997. – Vol. 68 (1). – P. 255–264.

### 1.3. РЕДОКС-РЕГУЛЯЦИЯ

Клетки многоклеточных организмов способны жить в водных средах (естественных или искусственных) только в границах определенных диапазонов концентраций химических элементов и соединений, значений температуры, pH и окислительно-восстановительного потенциала (ОВП, редокс-потенциала). При этом следует подчеркнуть, что в аэробных биологических системах неизбежно в той либо иной мере всегда выполняются условия для поддержания свободнорадикальных окислительных процессов, имеющих большое значение для сохранения структурно-функционального гомеостаза. Однако непосредственные измерения ОВП физиологических выделений, биосред и тканей организма не получили особого распространения ни в практической деятельности врачей, ни при проведении медико-биологических исследований. Считается, что редоксметрия не дает принципиально новой информации по сравнению с pH-метрией и измерениями  $pO_2$ , определением показателей кислотно-основного состояния и интенсивности свободнорадикальных реакций и т. д. [1]. Тем не менее вопрос о биологических последствиях изменения редокс-статуса биосред не лишен практической значимости и важен для понимания направленности фундаментальных биологических процессов,

определяющих функциональное состояние и метаболический статус клетки, ткани и живой системы в целом.

При протекании окислительно-восстановительных реакций между парами веществ, одно из которых донор электронов (восстановитель), а другое — акцептор (окислитель), совершается перенос электронов и расходуется энергия. ОВП соответствует работе по переносу электронов от окисляемого химического элемента или соединения к восстанавливаемому (от восстановителя к окислителю). В живых системах в биологических средах существует стационарный ОВП ( $E_{ст}$ ), который представляет собой соотношение суммарных концентраций окисленных и восстановленных форм химических соединений и отражает донорные или акцепторные свойства тестируемой среды относительно нормального водородного электрода (НВЭ).  $E_{ст}$  служит мерой тенденции системы становиться окисленной или восстановленной [2].

Стационарный редокс-потенциал для конкретных окислительно-восстановительных пар определяется по формуле Нернста:

$$E_{ст} = E_0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[Ox]}{[Red]}$$

где:  $E_0$  — стационарный ОВП данной редокс-пары при  $pH = 7,0$ ; давлении 1 атм и  $25\text{ }^\circ\text{C}$  относительно НВЭ, В;  $R$  — газовая постоянная Больцмана, равная  $8,314\text{ В} \cdot \text{Кл} \cdot \text{К}^{-1} \cdot \text{моль}^{-1}$ ;  $T$  — абсолютная температура,  $^\circ\text{K}$ ;  $n$  — число переносимых электронов;  $F$  — число Фарадея, равное  $96500\text{ Кл}$  [Ox], [Red] — концентрации окисленной и восстановленной форм редокс-пары,  $\text{моль} \cdot \text{л}^{-1}$ .

После подстановки численных значений констант и перехода к десятичным логарифмам формула Нернста принимает вид (при  $25\text{ }^\circ\text{C}$ ), более подходящий для практических расчетов:

$$E_{ст} = E_0 + \frac{0,0519}{n} \lg \frac{[Ox]}{[Red]}$$

При  $37\text{ }^\circ\text{C}$  коэффициент перед логарифмом в данной формуле принимает значение, равное  $0,0626/n$ .

Отклонения  $E_{ст}$  от  $E_0$  при различных окислительно-восстановительных реакциях в диапазоне отношений [Ox]/[Red] от  $0,1/99,9$  (99,9% восстановленных форм) до  $99,9/0,1$  (99,9% окисленных форм), рассчитанные по упрощенной формуле представлены в табл. 1.

Как видно из табл. 1, по мере восстановления или окисления субстрата расчетные приращения редокс-потенциала (положительные или отрицательные) достигают десятков милливольт, в частности, для одноэлектронных реакций — до  $\pm 180\text{ мВ}$  относительно равновесных значений. Следует заметить, что при «навязывании» химической либо биохимической системе редокс-потенциала, отличающегося от исходного (например, посредством внесения окислителей либо восстановителей), будет изменяться соотношение окисленных и восстановленных форм в редокс-парах соответственно величине изменения ОВП.

В многокомпонентных системах окислительно-восстановительные пары находятся в сложных комбинациях и постоянно меняющихся соотношениях. Значение величины  $pH$  существенно зависит от баланса окисленных и восстановленных

форм и, в свою очередь, влияет на редокс-потенциал среды. Стационарные значения ОВП с учетом фактора рН определяются по формуле:

$$E_{\text{ст}} = E_{\text{н}} + \frac{0,0591}{n} \ln \frac{[\text{Ox}]}{[\text{Red}]} - 0,06 \text{ рН},$$

где:  $E_{\text{ст}}$  — стационарный ОВП с поправкой на рН;  $E_{\text{н}}$  — ОВП для данной редокс-пары относительно НВЭ в условиях равновесия концентраций окисленных и восстановленных форм при рН = 0 и равно +0,42 В.

Таблица 1

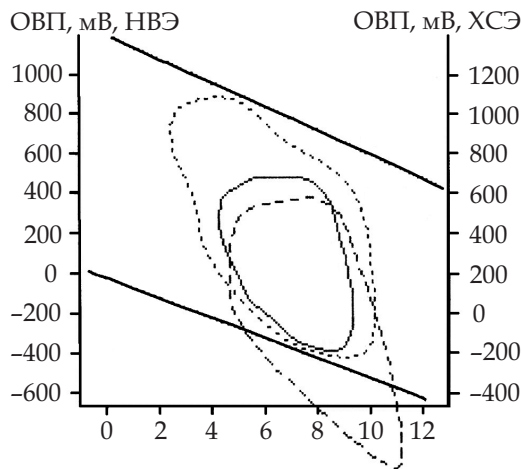
**Расчетные отклонения стационарных ОВП от равновесных значений в зависимости от отношений окисленных и восстановленных форм и количества электронных переносов [1]**

Содержание форм, %		$E_{\text{ст}} - E_0$ , В		
[Ox]	[Red]	ne = 1	ne = 2	ne = 3
0,1	99,9	-0,18	-0,09	-0,036
1	99	-0,12	-0,06	-0,024
10	90	-0,057	-0,029	-0,011
25	75	-0,029	-0,015	-0,006
50	50	0	0	0
75	25	0,029	0,015	0,006
90	10	0,057	0,029	0,011
99	1	0,12	0,06	0,024
99,9	0,1	0,18	0,09	0,036

Из этого следует, что при увеличении значения рН на единицу регрессия редокс-потенциала составит 0,060 В при 25 °С и 0,0626 В при 37 °С.

Однозначное толкование «полезности» или «вредности» сдвигов редокс-потенциала внутренней среды организма едва ли целесообразно. Если тем либо иным способом биосредам организма «навязано» определенное значение ОВП ( $E_{\text{ст}}$ ), то недоокисленные продукты окислительно-восстановительных пар, которые имеют меньшие равновесные редокс-потенциалы, будут стремиться к переходу в окисленную форму. В соответствии с данными табл. 1 можно показать, что создание в биологической среде значений ОВП, отличающихся от стационарного на -120 мВ, приводит редокс-пары с  $E_0 > E_{\text{ст}}$  в состояние практически полного преобладания восстановленных форм, а при обратном векторе изменений — в состояние преобладания окисленных форм. Например, если для лактата  $E_0$  равно -180 мВ (НВЭ), то при  $E_{\text{ст}}$  со значением от -270 до -300 мВ (НВЭ) в тканях организма будет создано депо молочной кислоты. Из этого не следует, что аэробное окисление глюкозы затормозится. Пируват в данных условиях будет образовываться в прежних или близких к ним количествах, после того как закончится накопление лактата до нового уровня.

В противоположной ситуации, при насыщении организма сильным окислителем — кислородом при гипербарической оксигенации, формируется сдвиг редокс-потенциала внутренней среды в сторону положительных значений. Но



**Рис. 9.** Область значений ОВП, совместимых с подвижностью эвглен и сперматозоидов быка в водных средах, а также роста бактерий на питательных средах [3]: где — ареал подвижности сперматозоидов быка; - - - - - ареал подвижности эвглен; ..... ареал роста микроорганизмов

митохондрий также может усилить подпитывание электроноакцепторными факторами межмембранного  $H^+$  резервуара. Это увеличивает градиент электрохимического потенциала на внутренней мембране митохондрий с последующим усилением аэробного окислительного фосфорилирования. Следовательно, в определенных границах динамика величины ОВП не сопровождается дезорганизацией метаболизма и окислительного фосфорилирования в клетках. Но, по-видимому, запредельные сдвиги редокс-потенциала в области локализации митохондрий способны наложить термодинамический запрет на процессы биологического окисления и тканевого дыхания.

Таким образом, редокс-потенциал биологических сред, понимаемый в настоящее время как уровень электронного «давления» в биосистеме, при соответствующих значениях может способствовать изменению соотношения восстановленных и окисленных форм химических соединений либо даже накладывать практически полный термодинамический запрет на существование одной из этих форм.

Наиболее легко обратимые окислительно-восстановительные превращения в структуре макромолекул способны претерпевать SH-группы остатка аминокислоты цистеин. Естественно, эти редокс-превращения тио-групп могут сопровождаться изменением конформационного состояния протеина и, как следствие, модулированием его специфической активности. Очевидно, макромолекулы, содержащие тио-группы, потенциально подходят на роль сенсоров динамики  $E_{ст}$  и ключевых звеньев триггерных механизмов, адаптирующих метаболический статус клетки к физиологическому состоянию. Правомерность такого предположения подкрепляется многочисленными экспериментальными

такое изменение ОВП существенно не влияет на скорость утилизации кислорода тканями, поскольку суммарная масса субстратов, подвергающихся окислению, напрямую не зависит от его избыточного содержания в тканях.

Некоторое усиление электронодонорного фона вокруг митохондрий (например, при назначении восстановителей — натрия тиосульфата, унитиола и т. п.) создает эффект внешнего электронного давления и стимулирует транспорт электронов внутрь органелл. В итоге электроны накапливаются на границе внутренней мембраны и митохондриального матрикса, что увеличивает трансмембранный градиент редокс-потенциала и при обеспеченности субстратами создает предпосылки для активации окислительного фосфорилирования (рис. 9).

Определенное усиление электроноакцепторных свойств среды вокруг

данными о причастности редокс-зависимых механизмов к процессам специфической регуляции экспрессии генов посредством влияния на активность ряда факторов транскрипции [4–10]. Целесообразно более подробно рассмотреть некоторые аспекты этой проблемы.

Фактор транскрипции NF-κB представляет собой гомо- или гетеродимер, формируемый различными комбинациями субъединиц, обозначаемыми как p50, p52, p65 (Rel-A), c-Rel и Rel-B [11–14]. В большинстве клеток в качестве преобладающей, впервые обнаруженной изоформы фактора транскрипции [15], NF-κB определяется как цитозольный гетеродимер, состоящий из p50- и p65-протеинов [16–19], ассоциированных с ингибиторным белком семейства I-κB [20]. Взаимодействие NF-κB с любым из членов семейства I-κB (I-κBα, I-κBβ, I-κBγ, I-κBε, Bcl-3) блокирует транслокацию фактора в клеточное ядро и исключает возможность его связывания с регуляторными участками ДНК [21, 22]. Фосфорилирование молекулы ингибитора по остаткам аминокислоты серина в положении 32 и 36 сопровождается диссоциацией комплекса «NF-κB – I-κB» и последующей (после убиквитинирования) быстрой утилизацией протеина-ингибитора протеосомами [23, 24]. Фосфорилирование I-κB обеспечивается киназами IKKα и IKKβ, существующими в виде киназных комплексов IKKα/IKKβ (IKKα/β) [25–27]. Протеинкиназы IKKα/β, в свою очередь, становятся активными после их фосфорилирования цитозольными тирозинкиназами [25, 27]. Именно на примере NF-κB впервые установили, что прооксиданты, в частности H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, способны активировать факторы транскрипции [5, 28–30].

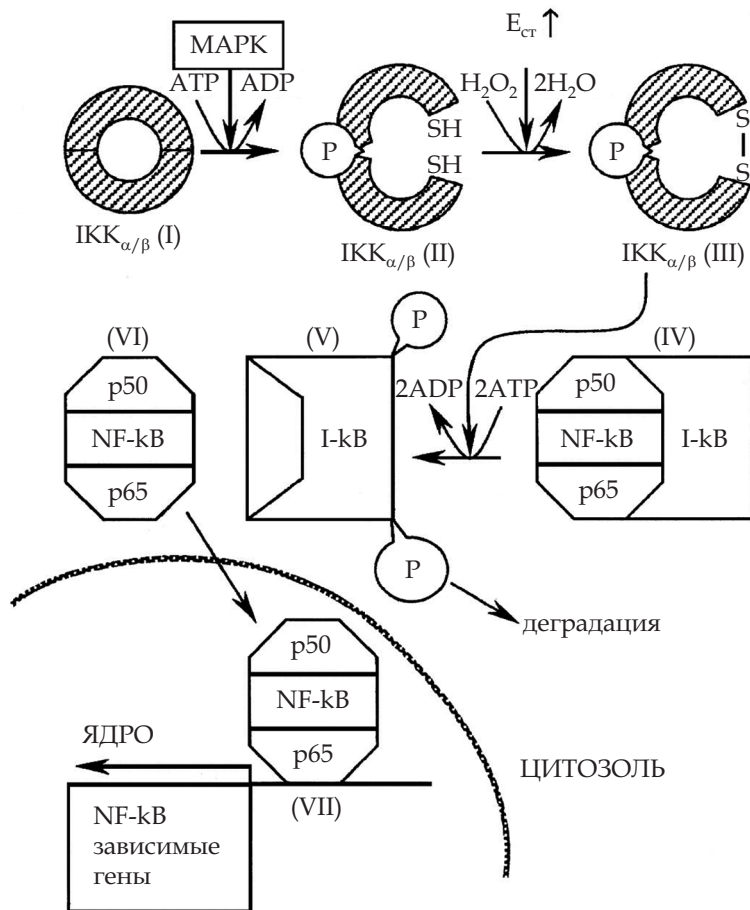
Таким образом, складывается довольно сложная картина трансдукции сигналов, управляющих транскрипцией генов, и возникает ряд вопросов:

- каким образом цитозольные макромолекулы распознают присутствие прооксидантов (увеличение значений  $E_{ст}$ )?
- каким образом воспринятый сигнал реализуется в активировании NF-κB?
- где сходятся пути активации NF-κB внеклеточными сигнальными факторами и прооксидантами?

Наиболее подходящим на роль узлового звена в механизмах стимуляции активности фактора транскрипции NF-κB представляется димерный комплекс IKKα/β.

Каждая из субъединиц этого димера, как оказалось, имеет в каталитическом домене несколько остатков цистеина [24, 26, 31]. Эти функционально значимые остатки тиосодержащей аминокислоты могут играть роль редокс-чувствительного триггера, улавливающего изменения редокс-статуса цитозоля и вследствие этого способного обратимо модулировать киназную активность IKKα/β. Но «обнаженными» и способными претерпевать тиолдисульфидные превращения SH-группы остатков цистеина становятся только после фосфорилирования данной протеинкиназы, обуславливающего ее соответствующие конформационные изменения. Фосфорилирование IKKα/β осуществляется тирозинкиназами (МАРК-киназами) после их предварительной рецептор-опосредованной активации цитокинами (рис. 10).

Поскольку соединения (прооксиданты), вызывающие сдвиг редокс-потенциала в сторону возрастания электроноакцепторных свойств среды, способствуют активации NF-κB, постольку изменения редокс-статуса в противоположном направлении (уменьшение значений ОВП) должны сопровождаться ингибированием активности NF-κB. И действительно, экспериментально доказано, что



**Рис. 10.** Активация фактора транскрипции NF-kB: MAPK – митогенактивируемая протеинкиназа; IKK $\alpha/\beta$  (I) – неактивная киназа; IKK $\alpha/\beta$  II – фосфорилированная неактивная киназа; IKK $\alpha/\beta$  III – активная киназа; IV – неактивный комплекс NF-kB-I-kB; (V) – фосфорилированный (неактивный) ингибитор NF-kB; VI – активированный NF-kB; VII – стимуляция транскрипции

различные тиоловые и жирорастворимые антиоксиданты (т. е. соединения-восстановители) и супероксиддисмутаза ингибируют активность NF-kB [5, 32, 33]. Дополнительные доказательства причастности прооксидантов к механизмам сигнальной трансдукции получены в экспериментах на культурах клеточных линий, суперэкспрессирующих или каталазу, или супероксиддисмутазу (СОД). В культуре клеток-суперпродуцентов каталазы не удавалось активировать NF-kB при внесении в среду инкубации пероксида водорода до тех пор, пока активность антиоксидантного фермента не ингибировали аминотриазолом. В отличие от этого, на клеточных линиях, суперэкспрессирующих СОД, под влиянием H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> четко регистрировали индукцию активности NF-kB [34, 35].

Как и технические устройства, системы биологической регуляции в целях обеспечения адекватного изменения функционального состояния клетки должны включать определенный набор элементов: сигнал, воспринимающий



его сенсор, трансдуктор сигнала, модулятор (модуляторы) чувствительности и функционального состояния системы регуляции, эффектор и механизм выключения (возвращения в исходное состояние). Редокс-регуляция, как фундаментальный процесс в биологии аэробов, находится под модулирующим воздействием ряда факторов, дисфункция которых может выступать в качестве патогенетически значимого компонента при злокачественных перерождениях, артритах, заболеваниях сердечно-сосудистой системы, органов дыхания и т. п. В частности, на фоне адекватной обеспеченности организма селеном циклооксиненаза-1 синтезирует достаточное количество 15-деокси-дельта-12,14-простагландина J2 (15d-PGJ2), обладающего активностью ингибитора ИКК $\beta$  посредством связывания с Cys-179 данного энзима. Кроме того, под влиянием 15d-PGJ2 активируется зависящая от ядерного рецептора PPAR- $\gamma$  экспрессия гена H-PGD2 (гемопоэтическая простагландин D-синтаза), что обеспечивает поддержание синтеза 15d-PGJ2, обладающего противовоспалительной активностью. В отличие от этого, при селен-дефицитных состояниях или ингибировании циклооксигеназы-1 (например, аспирином), на фоне снижения уровня 15d-PGJ2, как модулятора NF-kB-ассоциированного сигнального каскада, и изменения спектра экспрессируемых генов, индуцируется оксидативный стресс, воспаление в результате гиперэкспрессии циклооксигеназы-2 [36–39].

Основная функция NF-kB-зависимой сигнальной трансдукции заключается в обеспечении рецептор-инициированной активации генов системы врожденного иммунитета, т. е. в формировании воспалительной реакции в ответ на инвазию микроорганизмов или присутствие мимикрирующих их наличие лигандов. В качестве сенсоров, распознающих патоген-ассоциированные молекулярные образы (PAMPs), служат Toll-подобные рецепторы (TLRs). У млекопитающих идентифицировано наличие 13 различных TLRs, четыре из которых локализованы в эндосомальных везикулах, а остальные — на цитоплазматической мембране клеток [41–43]. Значительная часть Toll-подобных рецепторов (TLR1, 2, 4, 5, 6, 11) отличаются высоким аффинитетом к бактериальным PAMPs, среди которых и липополисахарид (LPS) наружной мембраны грамотрицательных бактерий [44, 45]. Другие рецепторы данного семейства (TLR3, 7, 9) специализированы на распознавании присутствия одно- и двухцепочечных РНК, метилированных CpG-последовательностей ДНК [45]. TLR2 и TLR4 вовлечены в формирование реакции на разрушение собственных клеточных элементов тканей млекопитающих посредством распознавания присутствия молекулярных образцов цитолиза [46]. Кроме того, NF-kB активируется такими провоспалительными медиаторами, как IL-1 $\beta$  и TNF $\alpha$ , через их соответствующие рецепторы, тирозинкиназами некоторых ростовых факторов, G-белок-зависимыми рецепторами и рецепторами антигенов. Общим для всех перечисленных путей инициации стимуляции активности NF-kB является то, что во всех случаях взаимодействия сенсора/рецептора со специфическим лигандом мембраносвязанная NAD (P) H-оксидаза начинает генерировать H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [12, 30, 47, 48].

Активирование NF-kB-зависимой сигнальной трансдукции сопровождается возрастанием экспрессии провоспалительных цитокинов: TNF $\alpha$ , IL-1 и IL-6; хемокинов: MCP-1 (протеин хемотаксиса моноцитов-1), IL-8 и MIP-1 $\alpha$  (макрофагальный провоспалительный протеин-1 $\alpha$ ); молекул адгезии: ICAM-1 (внутриклеточная адгезионная молекула-1), VCAM-1 (адгезионная молекула сосудистых клеток), ELAM (эндотелиальная молекула адгезии лейкоцитов); ростовых

факторов и ферментов (циклооксигеназа-2, индуцибельная NO-синтаза), продуцирующих вторичные провоспалительные медиаторы. Часть белков, синтез которых стимулируется посредством активации NF-κB-зависимой сигнальной трансдукции, представляют собой активаторы данного фактора транскрипции, способные амплифицировать начальный ответ иммунной системы, придавая ему в некоторых случаях разрушительный характер. Однако под влиянием NF-κB также стимулируется экспрессия белковых факторов, блокирующих аутофагию и апоптоз [12, 47–53].

Как ни удивительно, но среди более сорока тысяч публикаций по проблеме NF-κB как фактора транскрипции только несколько работ касаются вопроса прерывания/ограничения сигнального каскада данного фактора. Данный аспект проблемы весьма далек от четкого разрешения [48]. Тем не менее принято считать, что ограничение NF-κB-зависимой стимуляции экспрессии генов обеспечивается:

- ресинтезом I-κBs (интенсивность процесса ресинтеза ингибитора контролируется NF-κB) [5, 54]. I-κBs обеспечивают секвестрацию NF-κB в цитозоле, диссоциацию комплекса NF-κB-дНК и иницируют экспорт фактора транскрипции из ядра (процесс экспорта облегчается деацетилированием p65 [55, 56]) или его протеосомальную деградацию непосредственно в ядре клетки [30, 57–59];
- активность NF-κB ограничивается при его связывании с димером p50/p50, а окисление Cys 62 в молекулах p50 облегчает экспорт фактора транскрипции из ядра [30, 60];
- в последнее время в качестве основного медиатора, ограничивающего NF-κB-зависимые провоспалительные эффекты, предлагается рассматривать эндогенный, синтезируемый NAD(P)H-оксидазой пероксид водорода [61].

Это предположение вступает в очевидное противоречие с широко распространенным мнением о пероксиде водорода как индукторе активности (транслокации в ядро) фактора транскрипции NF-κB. Тщательный анализ четырех десятков публикаций о молекулярных механизмах активации NF-κB пероксидом водорода позволил установить, что стимуляция NF-κB-зависимой сигнальной трансдукции под влиянием H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> наблюдалась только в одной трети экспериментальных исследований, в то время как в другой трети работ зафиксировано ингибирующее действие, а в остальных публикациях никакого влияния вообще не описано [62]. Прецизионное поддержание уровня H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в культуральной среде позволило установить, что при концентрации 12,5 мкмоль (концентрация пероксида водорода в зоне воспаления) данный прооксидант стимулирует экспрессию NF-κB-зависимых провоспалительных генов, индуцируемых TNFα (IL-8, MCP-1, TLR-2, TNFα), а также способствует увеличению экспрессии противовоспалительных генов, таких как ген гемоксигеназы-1 (HO-1) и IL-6. При более высоких уровнях H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> стимулирование сменяется ингибированием транслокации NF-κB в ядра клеток, подавлением экспрессии провоспалительных факторов. Таким образом, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> обеспечивает поддержание баланса провоспалительной реакции по удалению патогенов и противовоспалительных эффектов для предотвращения проявлений разрушительного характера воспаления [63].

Итак, после нескольких десятков лет изучения сигнальной роли пероксида водорода H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> предстает не как индуктор NF-κB, а как модулятор активности

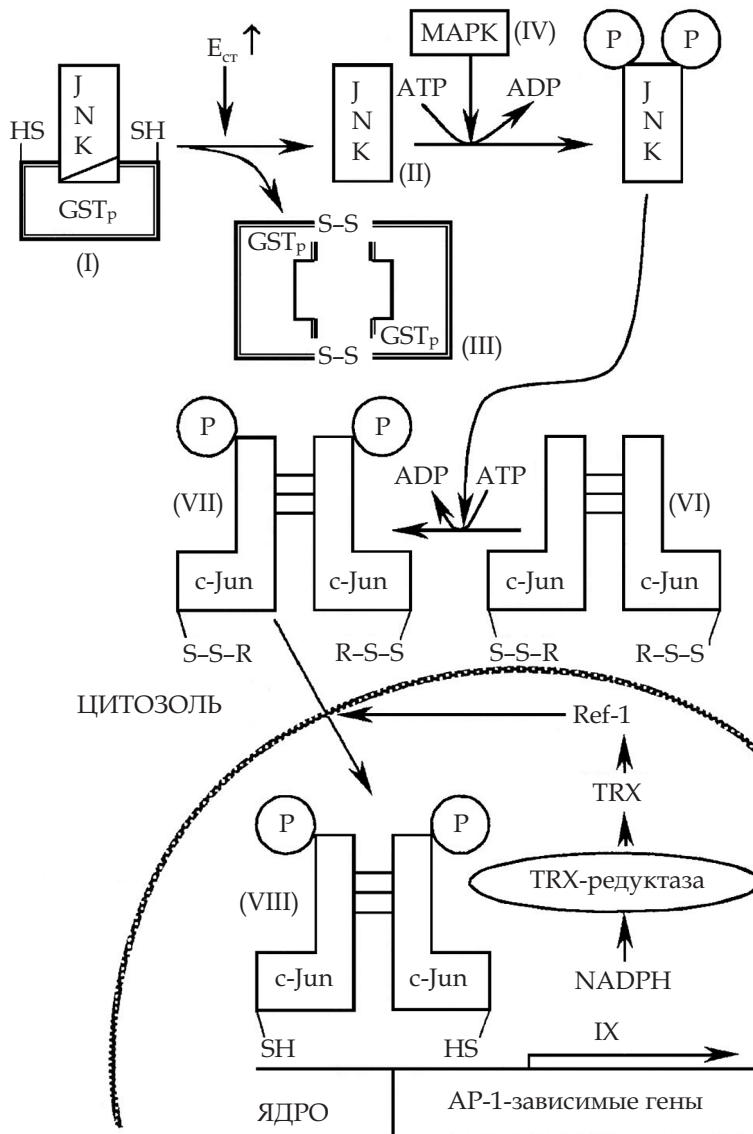
данного фактора транскрипции, стимулируемого другими сигнальными молекулами (цитокинами), способным эффективно ингибировать транслокацию фактора транскрипции в ядро клетки, а следовательно блокировать провоспалительные эффекты при высоких (более 12,5 мкмоль) концентрациях [62].

В регуляции экспрессии генов стрессорного ответа принимает участие и фактор транскрипции AP-1, также чувствительный к изменению редокс-статуса биосред [7, 32, 64]. Становление представлений о механизмах активации AP-1 было достаточно драматичным. В отличие от NF-kB, AP-1 может проявлять специфическую активность только в присутствии антиоксидантов [6, 65, 66] и теряет способность связываться с ДНК под влиянием прооксидантов [67, 68], но в то же время активироваться в цитозоле данный фактор транскрипции может только под влиянием прооксидантов [69].

AP-1 представляет собой или гомодимер протеинов семейства c-Jun (c-Jun, c-Jun B, c-Jun D), или гетеродимер c-Jun и одного из белков семейства c-Fos (c-Fos, Fos B, Fra 1, Fra 2) [70, 71]. Небольшое количество AP-1, постоянно присутствующее в цитоплазме в неактивной форме, представлено, главным образом, в виде c-Jun гомодимера [66, 70]. Начальная стадия активации AP-1 посредством фосфорилирования обеспечивается Jun-N-концевыми киназами (JNK) [72–75]. Установлено, что JNK в цитозоле тесно связаны с одним из представителей семейства глутатион-S-трансфераз, а именно с GSTp, всегда имеющимся в клетках в значительном количестве [69, 76, 77]. Прооксиданты, увеличивающие значения показателя ОВП среды, способны вызвать олигомеризацию мономеров GSTp за счет окисления SH-групп и формирования дисульфидных связей между молекулами трансферазы. Таким образом при увеличении  $E_{ct}$  уменьшается количество GSTp-JNK-комплексов.

Свободные JNK могут подвергаться фосфорилированию, опосредованному тирозиновыми киназами (MAPK-киназами), и, в свою очередь, вследствие этого приобретать способность фосфорилировать молекулы комплексов c-Jun и c-Fos [66]. Активированный AP-1, как и активированный NF-kB, транслоцируясь в ядро клетки, может связываться со специфическими последовательностями азотистых оснований в промоторах целого ряда генов, обеспечивающих функционирование биохимических механизмов гомеостатирования внутренней среды организма [66]. В отличие от прооксидантов, различные антиоксиданты (при уменьшении значений величины  $E_{ct}$  биосред) способствуют существенному возрастанию трансактивационного потенциала уже активированного AP-1 вследствие усиления тропности фактора к ДНК при восстановлении SH-групп остатков цистеина в ДНК-связывающем сайте [78]. В условиях оксидативного стресса окисленные SH-группы ДНК-связывающего домена фосфорилированных c-Jun и c-Fos, входящих в состав гомо- и гетеродимеров, уже после транслокации в клеточное ядро восстанавливаются редокс-фактором (Ref-1), который, в свою очередь, подвергается восстановлению системой тиоредоксин-тиоредоксинредуктаза [79–83] (рис. 11).

Ядерный фактор транскрипции Nrf2 впервые описан в 1994 году [84]. В последующем была установлена его способность связываться с ядерным антиоксидант-респонсивным элементом (ARE) [85], что сопровождается стимуляцией транскрипции генов энзимов второй фазы детоксикации ксенобиотиков и ключевого фермента синтеза глутатиона —  $\gamma$ -лутамилцистеинсинтетазы [86, 87]. При этом оказалось, что Nrf2 способен связываться только с окисленной формой ARE [88].



**Рис. 11.** Активация фактора транскрипции AP-1: I – комплекс JNK-GSTp; II – неактивная Jun-N-концевая киназа (JNK); III – димер GSTp; IV – митогенактивируемая протеинкиназа (MAPK); V – активная JNK; VI – неактивный AP-1; VII – фосфорилированный AP-1; VIII – активированный AP-1; IX – стимуляция транскрипции; GSTp – глутатион-S-трансфераза p; TRX – тиоредоксин; Ref-1 – редокс-фактор 1; NADPH – никотинамидадениндинуклеотид (восстановленный)

В физиологических условиях ядерный фактор транскрипции Nrf2 входит в состав белкового комплекса Keap1-Nrf2-Cullin-3, что обеспечивает его удержание в цитозоле (блокирует специфическую активность). В данном комплексе Cullin-3 способствует гомодимеризации Keap1, что необходимо для надежной фиксации Nrf2, его убиквитинизации и последующей протеосомальной

деградации [89–93]. Кроме того, Keap1 выполняет роль сенсора прооксидантов и электрофильных субстанций. Ковалентная модификация прооксидантами, алкилирующими агентами одной или нескольких из 27 SH-групп остатков аминокислоты цистеин, входящих в структуру Keap1 [94], обеспечивает высвобождение Nrf2 и возможность его транслокации в ядро клетки [95]. Но наиболее значима для активации Nrf2 модификация SH-групп цистеина в положении Cys 273 и Cys 288 [96–98]. Свободный цитозольный Nrf2 при участии протеинкиназы С быстро фосфорилируется по Ser 40 [99], что ингибирует его взаимодействие с Keap1, стабилизирует и одновременно облегчает ядерный импорт фактора транскрипции [93, 100]. В ядре клетки фосфорилированный Nrf2 гетеродимеризуется с Maf-протеином (MAF – musculo-aponeurotic fibrosarcoma protein), который маскирует аминокислотную последовательность, ответственную за экспорт белка из ядра. И таким образом данный фактор транскрипции, по-видимому, удерживается в ядре, что обеспечивает связывание с ARE и инициацию транскрипции [85]. За связывание с ARE Nrf2 конкурирует с фактором супрессии транскрипции Bach1 [101]. В условиях оксидативного стресса (при возрастании значений показателя  $E_{ст}$ ) Bach1 инактивируется, что обеспечивает беспрепятственное взаимодействие Nrf2 с ARE промоторных регионов целого ряда генов [102].

Эффекты фактора транскрипции Nrf2 ограничиваются (блокируются) благодаря наличию целого ряда механизмов:

- ядро содержит протеин Keap1, который, по-видимому, связывая Nrf2, направляет его к ядерным протеосомам для последующей деградации [93];
- полимеризация внутриклеточного актина, удерживая фактор Nrf2 в цитозоле и ограничивая тем самым его транслокацию в ядро, эффективно блокирует специфическую активность фактора транскрипции [103];
- Nrf2 активирует транскрипцию его собственных цитозольных ингибиторов (Cul3, Rbx1, Keap1) [104];
- Nrf2-ассоциированная индукция антиоксидантных ферментов и ферментов фазы II детоксикации ксенобиотиков, сопровождающаяся элиминацией прооксидантов и алкилирующих агентов, в конечном итоге прекращает их стимулирующее действие на активность Nrf2 [105–108].

Nrf2 посредством активации ARE регулирует экспрессию более двух сотен генов (рис. 12), в частности ферментов, которые прямо либо опосредованно обеспечивают:

- антиоксидантную защиту [109–120];
- функцию молекулярных шаперонов [121, 122];
- синтез глутатиона и его рециклирование [123–129];
- функционирование системы второй фазы детоксикации и метаболизма ксенобиотиков [130–135];
- распознавание, репарацию и удаление поврежденных/модифицированных протеинов [113, 121, 136, 137];
- репарацию повреждений ДНК [138, 139];
- изменение паттерна экспрессии других факторов транскрипции, ростовых факторов и их рецепторов [140–144];
- ингибирование цитокин-индуцированных проявлений воспалительной реакции [145–149];
- ингибирование процесса аутофагии [150, 151].

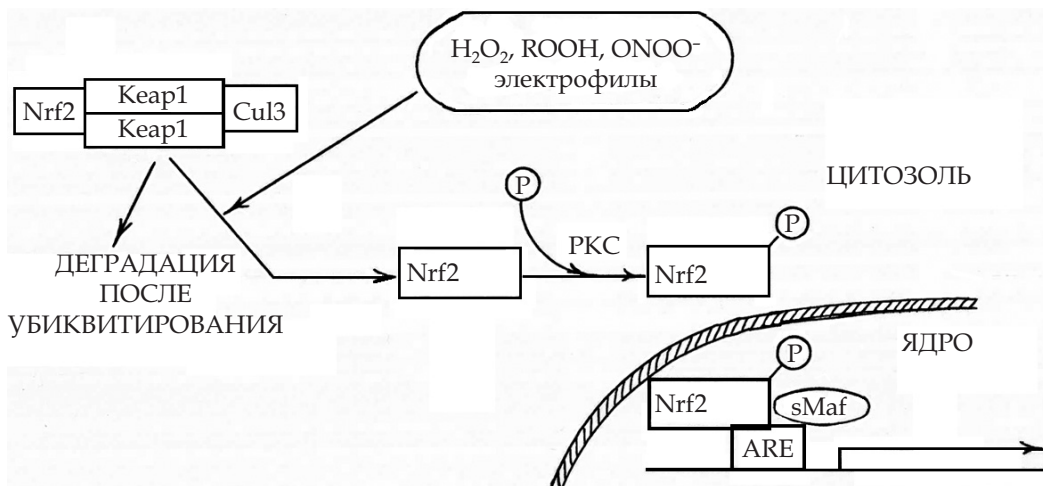
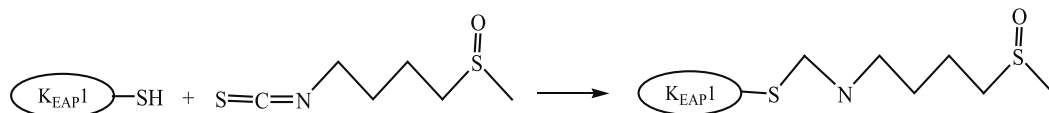


Рис. 12. Активация фактора транскрипции Nrf2

Стресс-протективная роль фактора транскрипции Nrf2 наглядно показана посредством использования генетических методов исследования: при нокауте генов Nrf2 животные вполне жизнеспособны и не отличаются повышенным уровнем пероксидации [152], но не в состоянии адекватно противостоять воздействиям, индуцирующим оксидативный стресс [153] и воспаление [154, 155].

Регулируя экспрессию множества генов, Nrf2 предстает одним из наиболее значимых факторов транскрипции, обеспечивающим резистентность организма к воздействию различных эндо- и экзогенных стрессоров посредством формирования быстрого неспецифического адаптивного ответа (противовоспалительной реакции). В связи с этим представляет определенный интерес возможность направленной модуляции активности Nrf2 как фактора транскрипции [95]. В качестве средства стимуляции транскрипционной активности Nrf2 рассматривается сульфорафан [156, 157]. Сульфорафан [1-изотиоцианато-4-(метилсульфинил)бутан] — алифатический изотиоцианат природного происхождения (содержится в овощах семейства крестоцветных: кочанной капусте, спаржевой капусте, цветной капусте, кольраби, крессе водяном, сурепке, хрене, редисе, репе, брюкве, китайской капусте, горчичном семени) [158]. Результаты многочисленных исследований недвусмысленно свидетельствуют о значительном лечебно-профилактическом потенциале данного препарата в онкологии [156, 159, 160], при патологии сетчатки глаза [161], при заболеваниях кожи [162–164]. Сульфоран как электрофильное соединение способен ковалентно модифицировать SH-группы остатков аминокислоты цистеин протеинов [165], в том числе сульфгидрильные группы Keap1 [166, 167], что, естественно, сопровождается стимуляцией экспрессии Nrf2-зависимых генов и соответствующими профилактическими и терапевтическими эффектами (рис. 13). Физиологические эффекты сульфорафана удачно дополняются его способностью ингибировать гистондеацетилазу (эпигенетическое модулирование экспрессии генов) [168] и избирательно снижать аффинитет ядерного фактора NF-κB к промоторам провоспалительных генов ДНК [169].



**Рис. 13.** Взаимодействие сульфорафана с SH-группой ингибитора Nrf2 Keap1

Четыре фактора транскрипции – Nrf2, FOXO, NF-κB и HSF, увеличивающие экспрессию множества различных цитопротективных протеинов, опосредуют интегративный адаптивный ответ организма при воздействии стрессоров. Nrf2 является наиболее важным фактором транскрипции, обеспечивающим быструю адаптивную реакцию посредством стимуляции экспрессии генов раннего стрессорного ответа. При этом в качестве сигнальной молекулы в процессе активации Nrf2 выступают эндогенные и экзогенные субстанции, ассоциированные с оксидативным стрессом:  $H_2O_2$ , ROOH, ONOO<sup>-</sup>, оксоальдегиды, кетоны, изотиоцианаты, димеркаптаны, некоторые статины и тяжелые металлы [165, 166, 170–172].

Помимо функционального состояния ядерных факторов транскрипции, активность целого ряда ферментов определяется редокс-статусом биологической среды (табл. 2, 3).

Таблица 2

**Редокс-контролируемые факторы транскрипции (по [88], с изменениями)**

Фактор транскрипции	Физиологический эффект, контролируемый ОВП	Источник
NF-κB	Образование дисульфидной связи между компонентами киназного комплекса IKKα/IKKβ и последующее фосфорилирование I-κB, высвобождение NF-κB и его связывание сДНК	173, 174
AP-1	Диссоциация GSTp и JNK, фосфорилирование cJun и cFos активированными JNK, транслокация cJun и cFos в ядро, восстановление их SH-групп, связывание с ДНК	67, 175–178
Nrf2	Ингибирование Keap1, транслокация Nrf2 в ядро и связывание сДНК, индукция экспрессии генов	166, 179
AhR	Ингибирование связывания с ДНК	180
β-catenin	Активация фактора β-catenin нуклеоредоксином	181
Egr-1	Ингибирование связывания с ДНК	32, 182
FOXO	Активация Akt, фосфорилирование FOXO, экспорт из ядра	183
GR	Ингибирование связывания с ДНК	184
HIF-1α	Инактивация HPH, стабилизация HIF-1α, возрастание активности при восстановлении цистеина Cys 800	176, 185–187

Фактор транскрипции	Физиологический эффект, контролируемый ОВП	Источник
p53	Фосфорилирование p53 MAP-киназами, окисление/восстановление Cys в ДНК-связывающем домене ингибирует/ поддерживает связывание с ДНК	32, 176, 188
Rax-5,-8	Окисление SH-групп фактора транскрипции блокирует его ДНК-связывающую активность	176, 189-191
Sp1	Окисление SH-групп фактора транскрипции блокирует его ДНК-связывающую активность	192, 193
TTF	Окисление SH-групп фактора транскрипции блокирует его ДНК-связывающую активность	32, 176
USF	Окисление SH-групп ингибирует активность фактора; ДНК-связывающая активность восстановленного USF увеличивается под влиянием HMG-1	194, 195
HSF1	HSF1 при окислении формирует гомотримеры, транслоцирующиеся в ядро и стимулирующие экспрессию белков теплового шока Hsp70 и Hsp90	196
CaMKII	Окисление метионина (281/282) активированной киназы (CaMKII) блокирует возможность инактивации	197

Общим для всех перечисленных выше химических соединений, модулирующих активность факторов транскрипции и некоторых энзимов, является их способность модифицировать (окислять, алкилировать) тиогруппы остатков аминокислоты цистеин полипептидов.

Таблица 3

## Редокс-регулируемые энзимы

Энзим	Эффект, контролируемый ОВП	Источник
Протеинтирозинкиназы	Окисление Cys сопровождается утратой нуклеофильности активного центра и способности фосфорилировать субстраты	198
Протеинтирозинфосфатазы	Окисление Cys активного центра ведет к утрате ферментативной активности и возрастанию уровня фосфорилирования тирозина субстратов протеинтирозинкиназ	199
Креатинкиназы	Окислительная модификация Cys блокирует трансфер макроэргических фосфатов с АТФ на креатин	200
Кальпаины	Окисление Cys из состава триплета (цистеин-гистидин-аспарагин) активного центра ведет к утрате протеолитической активности	203-205



Возможно, способность Nrf2 стимулировать транскрипцию генов раннего стрессорного ответа при воздействии субтоксических доз ксенобиотиков, индуцирующих продукцию прооксидантов, следует принять в качестве объяснения молекулярного базиса такого загадочного токсикологического феномена, как гормезис. Гормезис описывается как способность малых доз токсиканта стимулировать устойчивость организма к действию токсических доз данного яда и даже к другим неблагоприятным влияниям [206–209]. Не все гипотезы и не сразу находят свое подтверждение — только почти через пятьсот лет крылатое высказывание великого токсиколога и знатока отравлений Парацельса (Philippus Aureolus Theophrastus Bombastus von Hohenheim, 1493–1541): «Solum dosis facit venenum» («Одна лишь доза делает яд незаметным») получило приемлемое научное обоснование (подтверждение).

Стимуляция Keap1/Nrf2 сигнального пути слабым (0,1%) раствором пероксида водорода при его местном применении в виде полосканий оказалось чрезвычайно эффективной лечебной процедурой при начинающихся острых фарингитах и катаральных ангинах [210]. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> обладает выраженным антиинфламаторным действием при воспалительной легочной патологии [211].

Таким образом, электрофильные соединения (прооксиданты) способны модифицировать активность множества факторов транскрипции (см. табл. 2), целого ряда ферментов (см. табл. 3), играющих важную роль в реализации процессов клеточного роста, дифференцировки, воспаления, иммунного ответа и функционирования других систем гомеостатирования внутренней среды организма. Обращает на себя внимание множественность форм (изоформ) как факторов транскрипции, так и редокс-чувствительных ферментов, что, по-видимому, позволяет обеспечивать адекватную дифференцированность адаптивных реакций биологической системы.

Помимо факторов транскрипции, клеточный ответ при воздействии инсулина, цитокинов (интерферонов, интерлейкинов, ростовых и колониестимулирующих факторов) контролируется и такими цитозольными молекулами, как субстрат инсулинового рецептора 1 (IRS-1) и передатчик сигналов, активатор транскрипции (STAT). После фосфорилирования по остатку тирозина, опосредованного активированными лиганд-рецепторным взаимодействием тирозинкиназами (детали в обзорах [6, 10, 68, 112, 113]), IRS-1 и STAT приобретают способность влиять на экспрессию генов.

Важную роль в регуляции тирозинкиназных путей активации факторов транскрипции играют тирозинфосфатазы [214]. При декомпозиции комплексов «рецептор-цитокин» фосфатазы быстро дефосфорилируют рецепторные цитозольные тирозинкиназы, участвующие в передаче сигнала [214–217]. Дефосфорилирование обычно сопровождается утратой энзиматической активности. Исключением из общего правила является только то, что гликогенсинтаза и гликогенсинтазакиназа-3 $\beta$  проявляют специфическую активность при их дефосфорилировании. При этом важно заметить, что и протеинкиназы, и протеинфосфатазы — редокс-чувствительные ферменты. Все представители семейства тирозинфосфатаз имеют одну и ту же последовательность аминокислотных остатков в активном центре. В обязательном порядке в активный центр фосфатаз включен остаток цистеина (тиосодержащей аминокислоты), который обеспечивает гидролиз эфирной связи «тирозин-фосфат» [218, 219]. То есть баланс фосфорилирования/дефосфорилирования представляет собой редокс-

контролируемый процесс, определяющим образом влияющий на трансдукцию сигналов факторов транскрипции. При этом имеются определенные трудности в понимании путей реализации такого контроля. Кинетические параметры неферментативного окисления SH-групп остатков аминокислоты цистеина глутатиона и протеинфосфатаз, полученные в эксперименте *in vitro*, полностью исключают возможность окислительной модификации энзимов при физиологических значениях величины рН, т. е. в присутствии восстановленного глутатиона [220]. Тем не менее окислительная модификация тирозинфосфатаз в условиях *in vivo* представляет собой факт, не вызывающий сомнений [221, 222]. Возможно, редокс-контроль активности протеинфосфатаз опосредуется пероксидазами. Под влиянием гидропероксидов жирных кислот (ROOH) в активном центре пероксидаз, обладающем тио-группами, формируются дисульфидные связи. В присутствии восстановленного глутатиона окисленная форма пероксидаз, в процессе рециклирования в исходное состояние, вероятно, способна глутатионировать протеинфосфатазы [88]. Во всяком случае, известна способность глутаредоксина участвовать в процессах глутатионирования/деглутатионирования белков [223].

Биологическая целесообразность столь сложной системы редокс-контроля трансдукции сигналов факторов транскрипции заключается в том, что, с одной стороны, это, по-видимому, обеспечивает прецизионную точность реакции биохимических механизмов передачи сигналов, а с другой — в условиях оксидативного стресса, при истощении пула восстановленного глутатиона, возрастающая активность фосфатаз автоматически блокирует возможность чрезмерной стимуляции транскрипции генов и ассоциированных с этим энергозависимых процессов.

Складывается картина, в которой важнейшие участники регуляции экспрессии генов имеют редокс-чувствительные сайты, содержащие остаток цистеина, способного претерпевать окислительно-восстановительные превращения, изменяющие конформационное состояние и специфическую активность протеинов. Вместе с тем прооксиданты, в частности  $H_2O_2$ , предстают в качестве вторичных мессенджеров. Для того чтобы гипотеза о роли  $H_2O_2$  как вторичного посредника в сигнальной трансдукции получила право на существование, необходимо соответствие данной субстанции ряду критериев:

- определенный клеточный стимул с неизбежностью должен индуцировать продукцию  $H_2O_2$ ;
- экзогенный пероксид водорода непременно должен воспроизводить эффекты лиганд-рецепторного взаимодействия;
- поскольку молекула  $H_2O_2$  в отсутствие ионов металлов переменной валентности достаточно устойчива в биосредах, в клетках должен быть представлен механизм утилизации данного прооксиданта;
- блокирование продукции  $H_2O_2$  должно проявляться ослаблением специфического клеточного ответа;
- в структурах чувствительных клеток необходимо наличие ферментной системы генерации  $H_2O_2$ , восприимчивой к воздействию специфического внеклеточного стимула.

Идея о том, что клеточные редокс-триггеры регулируют ДНК-связывающую активность факторов транскрипции, относительно нова [78, 224, 225] и до недавнего времени воспринималась без особого энтузиазма, исходя из того, что

для внутриклеточной среды характерны редуцирующие значения окислительно-восстановительного потенциала. Однако из этого затруднения в понимании механизмов активации экспрессии генов можно выйти, допустив, что регуляторная функция  $H_2O_2$  и других прооксидантов может реализовываться в физиологических условиях и при локальном (примембранном) изменении редокс-потенциала цитоплазмы. Локальное изменение (возрастание) значений редокс-статуса обуславливает окисление SH-групп сенсорных белковых молекул и последующие изменения их структуры и активности. Рецептор-опосредованная активация STAT и IRS-1 только при достаточно выраженном, стрессорном увеличении значений редокс-потенциала распространяется на весь объем цитоплазмы и сопровождается вовлечением в процесс факторов транскрипции NF- $\kappa$ B, AP-1, Nrf2 и др.

Рассматривая вопросы критериального соответствия  $H_2O_2$  качествам вторичного мессенджера, можно считать твердо установленным:

- инсулин и цитокины, взаимодействуя с соответствующими рецепторами, стимулируют продукцию  $H_2O_2$  на цитоплазматической мембране чувствительных клеток [68, 226–229];
- $H_2O_2$  *in vitro* и *in vivo* воспроизводит эффекты инсулина, ростовых факторов и цитокинов [230–234]. Интересно, что в клетках злокачественных опухолей определяется значительное, коррелирующее со степенью малигнизации, снижение активности антиоксидантных ферментов, особенно каталазы [235]. По-видимому, стабилизация  $H_2O_2$ , а также опосредованная прооксидантом стимуляция экспрессии генов и предопределяют большую злокачественность опухолевых клеток;
- все клеточные элементы тканей, чувствительные к инсулину, ростовым факторам и цитокинам, содержат ферментные системы подавления активных форм и метаболитов кислорода. Каталаза и глутатионпероксидазы способны быстро восстанавливать исходный редокс-статус цитозоля после воздействия инсулина и цитокинов, катализируя трансформацию  $H_2O_2$  в  $H_2O$  [88, 232, 236, 237];
- в экспериментах с дифенилиодонием — соединением, ингибирующим NAD (P)H-оксидазу, показано, что данный ингибитор полностью блокирует стимулированную ростовыми факторами продукцию  $H_2O_2$ . При этом не регистрировалось снижения активности фосфатаз, не наблюдалось увеличения тирозинкиназной активности и стимуляции экспрессии генов [238, 239]. При длительном назначении животным пероксидазы хрена, разрушающей  $H_2O_2$  и способной проникать в клетки, наблюдали угнетение костномозгового кроветворения [240].

В настоящее время не возникает сомнений относительно того, что плазматическая мембрана клеток содержит рецептор-зависимую, стимулируемую цитокинами, ростовыми факторами ферментную систему генерации пероксида водорода. Однако детали биохимических механизмов продукции прооксиданта на клеточной мембране еще только устанавливаются. Взгляды отечественных и зарубежных исследователей на данную проблему существенно различаются, но дополняют друг друга.

Рассмотрение данной проблемы следует начать с экспериментов, выполненных в 50-е и 80-е годы XX столетия и, казалось бы, не имеющих прямого отношения к вопросу о сигнальной трансдукции.

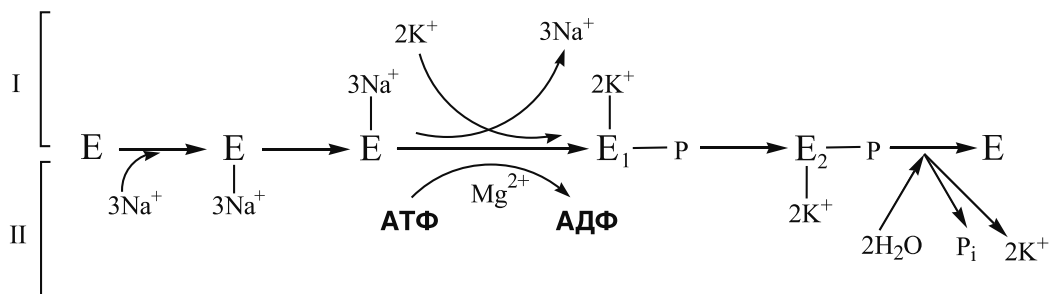
В 1957 году И. Скоу, работая с нервными волокнами краба, убедительно продемонстрировал, что концентрация одновалентных катионов натрия и калия внутри и снаружи клеток различается. Он доказал, что причина этого заключается в наличии в плазматических мембранах клеток особого фермента, гидролизующего АТФ и использующего энергию макроэргов для переноса ионов против электрохимического градиента [241, 242]. Открытие мембрано-ассоциированного фермента, относящегося к АТФ-фосфогидролазам, а именно Na,K-АТФ-азы (КФ 3.6.1.37), было выдающимся достижением, отмеченным в 1997 году присуждением Нобелевской премии по химии [243]. Установлено, что:

- транспорт  $\text{Na}^+$  и перенос  $\text{K}^+$  в процессе гидролиза АТФ тесно взаимосвязаны (система симпорта);
- гидролиз АТФ и транспорт катионов происходит лишь в том случае, если ионы  $\text{Na}^+$  и АТФ присутствуют с цитоплазматической стороны мембраны, а ионы  $\text{K}^+$  – с наружной;
- при гидролизе каждой молекулы АТФ три иона натрия выводятся во внеклеточное пространство, а два иона калия закачиваются внутрь клетки;
- Na,K-АТФ-аза может гидролизовать 100 молекул АТФ в секунду и относится к АТФ-азам  $E_1$ - и  $E_2$ -типа, т. е. к ферментам, расходующим энергию АТФ на осуществление внутренних конформационных превращений.

На сегодняшний день составлена признанная многими исследователями схема реакционного цикла Na,K-АТФ-азы (рис. 14).

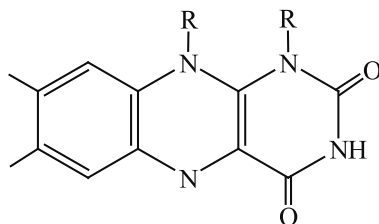
Согласно модели, фермент может существовать в двух конформационных состояниях –  $E_1$  и  $E_2$ , которым соответствует пара фосфоферментов –  $E_1\text{-P}$  и  $E_2\text{-P}$ . В реакционном цикле фосфорилирования/дефосфорилирования участвует только цитоплазматическая часть фермента. Фосфорилирование требует присутствия ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{Mg}^{2+}$ . В результате белковый комплекс Na,K-АТФ-азы претерпевает конформационные изменения, что и обеспечивает высвобождение связанных с ним ионов  $\text{Na}^+$  во внеклеточную среду. Добавление ионов  $\text{K}^+$  вызывает дефосфорилирование фермента с высвобождением неорганического фосфата, в ходе которого  $\text{K}^+$ -связывающие центры оказываются обращенными внутрь клетки и теряют тропность к этому катиону, а фермент возвращается в свое исходное состояние.

Через 23 года после первых работ И. Скоу, т. е. в 1980 году, А. А. Карелиным было показано, что плазматическая мембрана клеток в присутствии инсулина



**Рис. 14.** Схема реакционного цикла Na,K-АТФ-азы: E – фермент (Na,K-АТФ-аза);  $E_1$  и  $E_2$  – фосфорилированная форма фермента; P – остаток фосфорной кислоты; Pi – неорганический фосфат; I – внеклеточное пространство; II – цитозоль

способна синтезировать заметное количество АТФ, утилизируя АДФ, неорганический фосфат и восстановительные эквиваленты в виде NADH [244–246]. Стимулируемый инсулином и цитокинами синтез плазмомембранного АТФ наблюдали только в присутствии кислорода [247] и при наличии на наружной поверхности плазматической мембраны естественного железосодержащего акцептора электронов трансферрина [348] или при замене последнего на цитохром с [249]. Плазмомембранный синтез АТФ, стимулированный инсулином и цитокинами, полностью подавляется блокаторами входного потока катионов натрия в клетку амилоридом и соединениями, имеющими структуру [249, 250]:



На основании экспериментальных данных А. А. Карелиным и соавт. предложена гипотеза о сигналтрандуцирующей роли АТФ, в которой аденозинтрифосфат рассматривается как передатчик и усилитель сигналов цитокинов и ростовых факторов, т. е. как медиатор реакций фосфорилирования [250, 251]. По мнению авторов, взаимодействие ростовых факторов и цитокинов с рецепторами плазматической мембраны клеток-мишеней инициирует каскад событий, включающий:

- димеризацию или гетеродимеризацию лиганд-рецепторных комплексов [253] (исключение составляет инсулиновый рецептор, представляющий собой природный димер [252]);
- активацию лиганд-рецепторным димером протон-выкачивающей NADH-оксидазы, что сопровождается генерированием трансмембранного протонного градиента. При достижении определенной величины протонный градиент, скорее всего, обращает режим работы Na,K-АТФ-азы, т. е. АТФ-азная активность сменяется АТФ-синтетазной;
- взаимодействие вновь синтезированного АТФ с АТФ-распознающими (связывающими) доменами рецепторных димеров и последующее их аутофосфорилирование либо взаимодействие с другими цитозольными участниками трандукции сигнала обеспечивает фосфорилирование сигнальных белков-мишеней.

Однако предлагаемая гипотетическая конструкция не позволяет получить вразумительных ответов на некоторые вопросы:

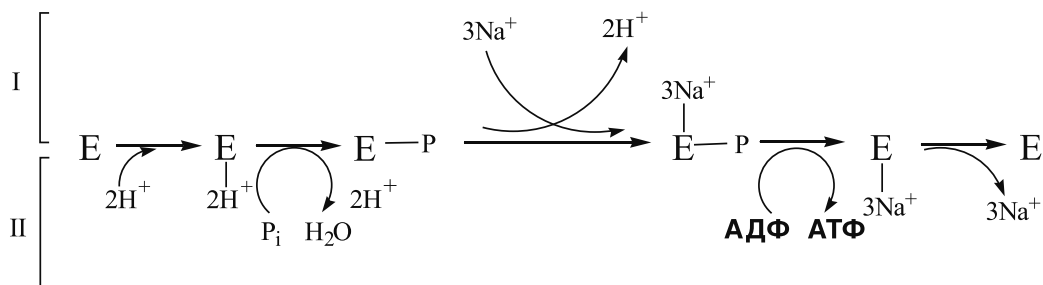
- каким образом распознается сигнальный АТФ на фоне высокого уровня аденозинтрифосфата в цитозоле клеток?
- почему эффекты белковых сигнальных молекул (инсулина, цитокинов, ростовых факторов) воспроизводятся  $H_2O_2$ , а не АТФ?

Вместе с тем в последние годы увеличивается количество работ, в которых показано, что  $H_2O_2$  не только мимикрирует взаимодействие цитокинов и ростовых факторов с рецепторами клеток, но и генерируется на цитоплазматической мембране при рецептор-опосредованной специфической стимуляции

экспрессии генов. В частности, в работе Н. I. Krieger-Brauer и соавт. показано, что в процессе трансдукции сигнала инсулина в физиологических условиях пероксид водорода генерируется оригинальной, связанной с плазматической мембраной  $Mn^{2+}$ -зависимой NADPH-оксидазой, способной взаимодействовать с белком *Gai2* [254]. В случае стимуляции адренергических рецепторов катехоламинами NADPH-оксидаза включается в процесс продукции  $H_2O_2$  белком  $G\beta\gamma$  [255]. В других работах получены дополнительные данные, свидетельствующие о значимости *Gai2* в реализации эффектов инсулина. У трансгенных животных, при отсутствии *Gai2* в цитоплазматических мембранах, обнаружены ареактивность клеточных элементов тканей к инсулину и низкая толерантность к глюкозе [256]. В отличие от этого, у трансгенных животных с конститутивно активной субъединицей G-комплекса *Gai2* в инсулин-чувствительных клетках выявлен весь спектр эффектов инсулина при отсутствии гормона в биосредах [257]. В общем, интегральная роль  $H_2O_2$  в рецептор-зависимой сигнальной трансдукции не вызывает сомнений, но пока остается множество вопросов относительно биохимических механизмов генерации данного редокс-фактора [234, 258].

Исходя из всей совокупности имеющихся экспериментальных данных, нами предлагается следующее гипотетическое видение функционирования механизмов трансмембранной передачи внеклеточных рецептор-опосредованных стимулов, регулирующих экспрессию генов:

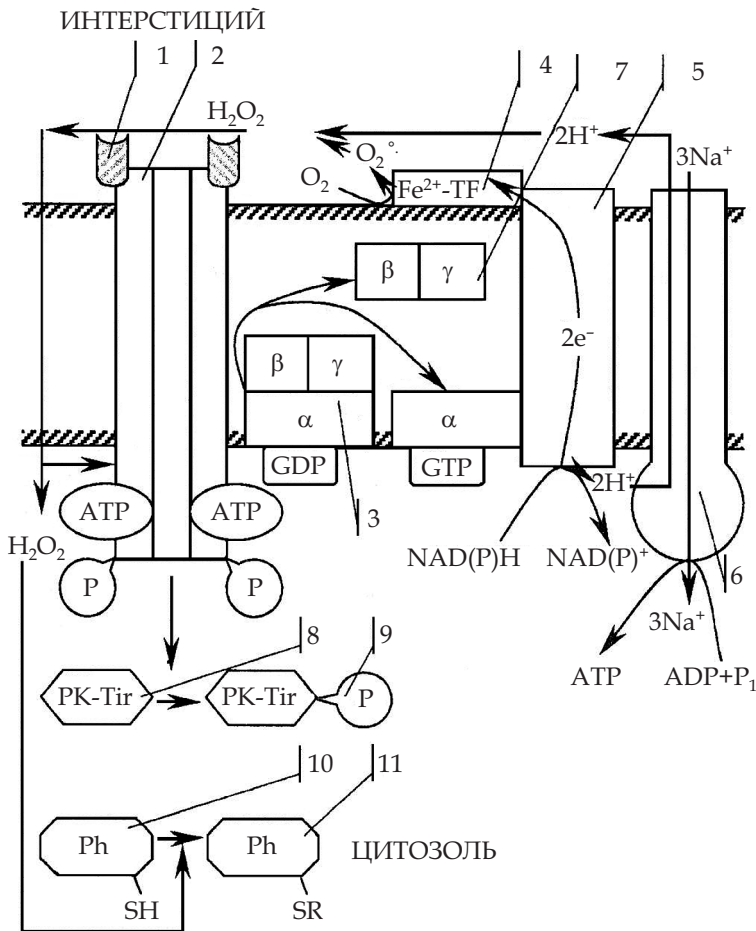
- взаимодействие белковых сигнальных молекул (инсулина, цитокинов, ростовых факторов) с лиганд-связывающим доменом рецепторного образования изменяет конформационное состояние рецептора и сопровождается димеризацией или гетеродимеризацией лиганд-рецепторных комплексов;
- димеры или гетеродимеры лиганд-рецепторных комплексов при достаточном уровне цитозольного АТФ вступают во взаимодействие с макроэргом посредством цитозольного АТФ-связывающего сайта и претерпевают дальнейшие конформационные изменения (таким образом осуществляется тестирование достаточности энергетического потенциала клетки для обеспечения пластических процессов);
- после связывания с АТФ лиганд-рецепторные димеры (гетеродимеры) приобретают способность взаимодействовать через соответствующий локус с G-белковым комплексом. Ассоциация рецептора с G-белком сопровождается заменой GDP на его  $\alpha$ -субъединице на GTP, и G-белковый комплекс диссоциирует на  $G\beta\gamma$  и  $G\alpha$ -субъединицы;
- последующая ассоциация  $G\alpha$ -субъединицы с мембранной (интегральной) NAD (P)H-оксидазой стимулирует активность данного фермента и индуцирует окисление восстановленных форм пиридиновых нуклеотидов — NADH и NADPH;
- ферментативное окисление NAD (P)H сопровождается трансмембранной передачей NAD (P)H-оксидазой электрона на внешнюю поверхность цитоплазматической мембраны, что приводит к восстановлению трансферин-кислородного комплекса и формированию трансмембранного электрохимического потенциала;
- при достижении градиентом электрохимического потенциала величины, достаточной для синтеза АТФ, по всей видимости, имеет место транзиторная конверсия плазмомембранной Na,K-АТФ-азы в АТФ-синтазу при натрий-протонном антипорте через данный ионный обменник (рис. 15);



**Рис. 15.** Схема реакционного цикла синтеза АТФ транзиторно обращенной Na,K-АТФ-азой: E — фермент (Na,K-АТФ-аза); P — остаток фосфорной кислоты; Pi — неорганический фосфат; I — внеклеточное пространство; II — цитозоль

- взаимодействие протона с восстановленным комплексом «трансферрин- $O_2$ » сопровождается генерированием прооксидантов, главным образом  $H_2O_2$ ;
- $H_2O_2$ , будучи неполярным соединением, легко диффундирует через цитоплазматическую мембрану, и в результате локального (примембранного) изменения редокс-статуса становится возможным аутофосфорилирование лиганд-рецепторного димера при одновременном обратимом ингибировании активности протеинфосфатаз;
- аутофосфорилированный лиганд-рецепторный комплекс, приобретая киназную активность, обеспечивает фосфорилирование цитозольных участников сигнальной трансдукции. Таким образом, через серию белок-белковых взаимодействий, включающих 4–6 различных митогенактивируемых протеинкиназ (МАРК), стимулируется экспрессия генов (рис. 16);
- в некоторых случаях под влиянием цитокинов (при воздействии на клетку  $TNF_{2\alpha}$ ), помимо плазмомембранного генерирования  $H_2O_2$ , стимулируется и митохондриальная продукция прооксидантов;
- диссоциация лиганд-рецепторного комплекса сопровождается исчезновением G $\alpha$ -опосредованной стимуляции активности NAD(P)H-оксидазы, а следовательно и прекращением функционирования биохимической системы генерирования  $H_2O_2$ . Быстрое восстановление, при участии антиоксидантных ферментов, исходного редокс-статуса обуславливает восстановление активности фосфатаз и дефосфорилирование участников сигнальной стимуляции экспрессии генов.

Таким образом, совокупность изложенных фактов позволяет констатировать: пероксид водорода соответствует всем критериальным требованиям, предъявляемым к соединениям, претендующим на роль вторичных сигнальных молекул, а значит может быть признан вторичным мессенджером. Сенсорами  $H_2O_2$  (редокс-потенциала) в биологических системах выступают способные легко претерпевать обратимые окислительно-восстановительные изменения сульфгидрильные группы макромолекул. В качестве основного фактора, определяющего выраженность и направленность эффектов сигнальной трансдукции, предстает динамика тиолдисульфидного соотношения в компартментах клетки. «Навязываемое» прооксидантами (акцепторами электронов) изменение редокс-статуса в зависимости от выраженности



**Рис. 16.** Плазмомембранный синтез АТФ и  $H_2O_2$  на примере инсулинового рецептора: 1 – сигнальная молекула; 2 – рецепторный комплекс; 3 – G-белковый комплекс; 4 – трансферрин-кислородный комплекс; 5 – NAD (P)H-оксидаза; 6 – Na,K-АТФ-аза, претерпевшая конверсию в АТФ-синтетазу; 7 –  $G_{\beta,\gamma}$ -субъединица G-белкового комплекса; 8 – неактивная тирозинкиназа; 9 – фосфорилированная (активная) протеинкиназа; 10 – активная тирозинфосфатаза (SH-форма); 11 – неактивная тирозинфосфатаза (SS-форма)

и генерализации инициирует ту или иную степень стимуляции экспрессии определенного спектра генов.

Рассматривая различные аспекты проблемы регуляторной роли  $H_2O_2$  в биологических системах, важно не пропустить и вопрос причастности прооксидантов к инициации каскада событий в зависимости от ситуации ведущих к детерминации апоптотического либо некротического варианта гибели клеток. Низкие (физиологические) концентрации  $H_2O_2$  увеличивают устойчивость клеток к воздействию неблагоприятных факторов [4, 68, 259, 260]. Однако при чрезмерной продукции прооксидантов и значительном возрастании окислительно-восстановительного потенциала, сопровождающемся масштабной модификацией структуры важнейших биомакромолекул, индуцируется апоптоз [261–263]. При



выраженном и быстром (катастрофическом) изменении  $E_{ct}$  гибель клеток развивается по некротическому типу [262, 264–266].

Роль кислорода в процессах биоэнергетики и неферментативного окисления изучалась в течение последних ста лет. В настоящее время мы вступили в период бурно формирующихся представлений о кислороде и его интермедиатах как об участниках клеточной сигнальной трансдукции, обеспечивающей поддержание гомеостаза в изменяющихся условиях [267].

## Литература

1. Прилуцкий В. И., Бахир В. М. Электрохимически активированная вода: аномальные свойства, механизм биологического действия. — М.: ВНИИИ МТ, 1997. — 228 с.
2. Сумаруков Г. В. Окислительное равновесие и радиочувствительность организмов. — М.: Атомиздат, 1970.
3. Леонов Б. И., Прилуцкий В. И., Бахир М. В. Физико-химические аспекты биологического действия электрохимически активированной воды. — М.: ВНИИИМТ, 1999. — 233 с.
4. Burdon R. H. Superoxide and hydrogen peroxide in relation to mammalian cell proliferation // *Free Radic. Biol. Med.* — 1995. — Vol. 18 (4). — P. 775–794.
5. Flohe L., Brigelius-Flohe R., Salion C. Redox regulation of NF-kappa B activation // *Free Radic. Biol. Med.* — 1997. — Vol. 22 (6). — P. 1115–1126.
6. Dalton T. P., Shertzer H. G., Puga A. Regulation of gene expression by reactive oxygen // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* — 1999. — Vol. 39 (1). — P. 67–101.
7. Guis D., Botero A., Shah S., Curry H. A. Intracellular oxidation/reduction status in the regulation of transcription factors NF-kB and AP-1 // *Toxicol. Lett.* — 1999. — Vol. 106 (2–3). — P. 93–106.
8. Турпаев К. Т. Reactive oxygen species and regulation of gene expression // *Biochemistry.* — 2002. — Vol. 67 (3). — P. 281–292.
9. Valko M., Leibfritz D., Moncol J. et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease // *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* — 2007. — Vol. 39 (1). — P. 44–84.
10. Ma Q. Transcriptional responses to oxidative stress: pathological and toxicological implications // *Pharmacol. Ther.* — 2010. — Vol. 125 (3). — P. 376–393.
11. Baeuerle P. A., Baltimore D. NF-kappa B: ten years after // *Cell.* — 1996. — Vol. 87 (1). — P. 13–20.
12. Hayden M. S., Ghosh S. Signaling to NF-kappa B // *Genes Dev.* — 2004. — Vol. 18 (18). — P. 2195–2224.
13. Moynagh P. N. The NF-kB pathway // *J. Cell. Sci.* — 2005. — Vol. 118 (20). — P. 4389–4392.
14. Gilmore T. D. Introduction to NF-kB: players, pathways, perspectives // *Oncogene.* — 2006. — Vol. 25 (51). — P. 6680–6684.
15. Sen R., Baltimore D. Multiple nuclear factors interact with the immunoglobulin enhancer sequences // *Cell.* — 1986. — Vol. 46 (5). — P. 705–716.
16. Fujita T., Noland G. P., Liou H. C. et al. The candidate proto-oncogene bcl-3 encodes a transcriptional coactivator that activates through NF-kappa B p50 homodimers // *Genes Dev.* — 1993. — Vol. 7 (7B). — P. 1354–1363.

17. *Caamano J., Hunter C. A.* NF- $\kappa$ B family of transcription factors: central regulators of innate and adaptive immune functions // *Clin. Microbiol. Rev.* — 2002. — Vol. 15 (4). — P. 414–429.
18. *Tian B., Brasier A. R.* Identification of a nuclear factor kappa B-dependent gene network // *Recent Prog. Horm. Res.* — 2003. — Vol. 58 (1). — P. 95–130.
19. *Espinosa L., Bigas A., Mulero M. C.* Alternative nuclear functions for NF- $\kappa$ B family members // *Am. J. Cancer Res.* — 2011. — Vol. 1 (4). — P. 446–459.
20. *Baldwin A. S.* The NF- $\kappa$ B and I kappa B proteins: new discoveries and insights // *Annu. Rev. Immunol.* — 1996. — Vol. 14. — P. 649–681.
21. *Henkel T., Zabel U., van Zee K.* et al. Intramolecular masking of the nuclear location signal and dimerization domain in the precursors for the p50 NF- $\kappa$ B subunit // *Cell.* — 1992. — Vol. 68 (6). — P. 1121–1133.
22. *Li Z., Nabel G. J.* A new member of the I kappa B protein family, I kappa B epsilon, inhibits RelA (p65)-mediated NF- $\kappa$ B transcription // *Mol. Cell Biol.* — 1997. — Vol. 17 (10). — P. 6184–6190.
23. *Traenckner E. B., Pahl H. L., Henkel T.* et al. Phosphorylation of human I kappaB-alpha on serine 32 and 36 controls I kappa B-alpha proteolysis and NF- $\kappa$ B activation in response to diverse stimuli // *EMBO J.* — 1995. — Vol. 14 (12). — P. 2876–2883.
24. *Hacker H., Karin M.* Regulation and function of IKK and IKK-related kinases // *Sci. STKE.* — 2006. — Vol. 357. — P. re 13.
25. *Lee F. S., Hagler J., Chen Z. J., Maniatis T.* Activation of the I $\kappa$ Ba kinase complex by MEKK1, a kinase of the JNK pathway // *Cell.* — 1997. — Vol. 88 (2). — P. 213–222.
26. *Zandi E., Rothwarf D. M., Delhase M.* et al. The I $\kappa$ B kinase complex (IKK) contains two kinase subunits, IKK $\alpha$  and IKK $\beta$ , necessary for I $\kappa$ B phosphorylation and NF- $\kappa$ B activation // *Cell.* — 1997. — Vol. 91 (2). — P. 243–252.
27. *Israel A.* The IKK complex, a central regulator of the NF- $\kappa$ B activation // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* — 2009. — doi. 10.1101/cshperspect.a000158.
28. *Staal F. J., Roederer M., Herzenberg L. A.* Intracellular thiols regulate activation of nuclear factor kappa B and transcription of human immunodeficiency virus // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1990. — Vol. 87. — P. 9943–9947.
29. *Schreck R., Rieber P., Baeuerle P. A.* Reactive oxygen intermediates as apparently widely used messengers in the activation of the NF- $\kappa$ B transcription factor and HIV-1 // *EMBO J.* — 1991. — Vol. 10 (8). — P. 2247–2258.
30. *Gloire G., Piette J.* Redox regulation of nuclear post-translational modifications during NF- $\kappa$ B activation // *Antioxid. Redox Signal.* — 2009. — Vol. 11 (9). — P. 2209–2222.
31. *DiDonato J. A., Mercurio F., Rosette C.* et al. Mapping of the inducible I $\kappa$ Ba phosphorylation sites that signal its ubiquitination and degradation // *Mol. Cell Biol.* — 1996. — Vol. 16 (4). — P. 1295–1304.
32. *Sun Y., Oberley L. W.* Redox regulation of transcriptional activators // *Free Radic. Biol. Med.* 1996. — Vol. 21 (3). — P. 335–338.
33. *Song Y. S., Lee Y.-S., Chan P. H.* Oxidative stress transiently decreases the IKK complex (IKK $\alpha$ ,  $\beta$  and  $\gamma$ ), an upstream component of NF- $\kappa$ B signaling, after transient focal cerebral ischemia in mice // *J. Cerebr. Blood Metab.* — 2005. — Vol. 25 (10). — P. 1301–1311.
34. *Schmidt K. N., Amstad P., Cerutti P., Baeuerle P. A.* The roles of hydrogen peroxide and superoxide as messengers in the activation of transcription factor NF- $\kappa$ B // *Chem. Biol.* — 1995. — Vol. 2 (1). — P. 13–22.

35. Schmidt K. N., Traencher E. B.-M., Meier B., Baeuerle P. A. Induction of oxidative stress by okadaic acid is required for activation of transcription factor NF-kappa B // *J. Biol. Chem.* – 1995. – Vol. 270 (45). – P. 27136–27142.
36. Fahmi H., Pelletier J.-P., Mineau F., Martel-Pelletier J. 15d-PGJ (2) is acting as «dual agent» on the regulation of COX-2 expression in human osteoarthritic chondrocytes // *Osteoarthritis Cartilage.* – 2002. – Vol. 10 (11). – P. 845–848.
37. Kim W. J., Kim J. H., Jang S. K. Anti-inflammatory lipid mediator 15d-PGJ2 inhibits translation through inactivation of eIF4A // *EMBO J.* – 2007. – Vol. 26 (24). – P. 5020–5032.
38. Shimada T., Fujii Y., Koike T. et al. Peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) regulates trefoil factor family 2 (TFF2) expression in gastric epithelial cells // *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* – 2007. – Vol. 39 (3). – P. 626–637.
39. Vunta H. L. Redox regulation of the NF-kappa B pathway by selenium in macrophages: role of 15 $\alpha$ -deoxy-Delta 12,14-prostaglandin J2. Doctoral dissertation thesis. – The Pennsylvania State University, 2008. – 170 p.
40. Shi Z., Cai Z., Wen S. et al. Transcriptional regulation of the novel Toll-like receptor Tlr13 // *J. Biol. Chem.* – 2009. – Vol. 284 (31). – P. 20540–20547.
41. Kumar H., Kawai S., Akira S. Toll-like receptors and innate immunity // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2009. – Vol. 388 (4). – P. 621–625.
42. Kumar H., Kawai T., Akira S. Pathogen recognition by the innate immune system // *Int. Rev. Immunol.* – 2011. – Vol. 30 (1). – P. 16–34.
43. Kawai T., Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors // *Nat. Immunol.* – 2010. – Vol. 11 (5). – P. 373–384.
44. Beutler B., Rietschel E. T. Innate immune sensing and its root: the story of endotoxin // *Nat. Rev. Immunol.* – 2003. – Vol. 3 (2). – P. 169–176.
45. Akira S., Takeda K. Toll-like receptor signaling // *Nat. Rev. Immunol.* – 2004. – Vol. 4 (7). – P. 499–511.
46. Gill R., Tsung A., Billiar T. Linking oxidative stress to inflammation. Toll-like receptors // *Free Radic. Biol. Med.* – 2010. – Vol. 48 (9). – P. 1121–1132.
47. Bonizzi G., Karin M. The two NF-kB activation pathways and their role in innate and adaptive immunity // *Trends Immunol.* – 2004. – Vol. 25 (6). – P. 280–288.
48. Hayden M. S., Ghosh S. Shared principles in NF-kappaB signaling // *Cell.* – 2008. – Vol. 132 (3). – P. 344–362.
49. Djavaheri-Mergni M., Amelotti M., Mathieu J. et al. NF-kappaB activation represses tumor necrosis factor-alpha-induced autophagy // *J. Biol. Chem.* – 2006. – Vol. 281 (41). – P. 30373–30382.
50. Djavaheri-Mergni M., Amelotti M., Mathieu J. et al. Regulation of autophagy by NF-kappaB transcription factor and reactive oxygen species // *Autophagy.* – 2007. – Vol. 3 (4). – P. 390–392.
51. Azad M. B., Chen Y., Gibson S. B. Regulation of autophagy by reactive oxygen species (ROS): implications for cancer progression and treatment // *Antioxid. Redox Signal.* – 2009. – Vol. 11 (4). – P. 777–790.
52. Comb W. C., Cogswell P., Sitcheran R., Baldwin A. S. IKK-dependent, NF-kB-independent control of autophagic gene expression // *Oncogene.* – 2011. – Vol. 30 (14). – P. 1727–1732.
53. Trocoli A., Djavahery-Mergni M. The complex interplay between autophagy and NF-kB signaling pathway in cancer cells // *Am. J. Cancer Res.* – 2011. – Vol. 1 (5). – P. 629–649.

54. Rice N. R., Ernst M. K. *In vivo* control of NF-kappa B activation by I kappa B alpha // EMBO J. — 1993. — Vol. 12 (12). — P. 4685–4695.
55. Ito K., Lim S., Caramori G. et al. Cigarette smoking reduces histone deacetylase 2 expression, enhances cytokine expression, and inhibits glucocorticoid actions in alveolar macrophages // *Faseb J.* — 2001. — Vol. 15 (6). — P. 1110–1112.
56. Yang S. R., Chida A. S., Bauter M. R. et al. Cigarette smoke induces proinflammatory cytokine release by activation of NF-kappa B and posttranslational modifications of histone deacetylase in macrophages // *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* — 2006. — Vol. 291 (1). — P. L46–L57.
57. Park S. W., Hug M. D., Hu X., Wei L. N. Tyrosine nitration on p65: a novel mechanism to rapidly inactivate nuclear factor-kappa B // *Mol. Cell. Proteomics.* — 2005. — Vol. 4 (3). — P. 300–309.
58. Natoli G., Chicca S. Nuclear ubiquitin ligases, NF-kappa B degradation, and the control of inflammation // *Sci. Signal.* — 2008. — Vol. 1 (1). — P. pe1.
59. Saccani S., Marazzi I., Beg A. A., Natoli G. Degradation promoter-bound p65/RelA is essential for the prompt termination of the nuclear factor kappa B response // *J. Exp. Med.* — 2004. — Vol. 200 (1). — P. 107–113.
60. Baeuerle P. A., Henkel T. Function and activation of NF-kappa B in the immune system // *Annu. Rev. Immunol.* — 1994. — Vol. 12. — P. 141–179.
61. Segal B. H., Han W., Bushney J. J. et al. NADPH oxidase limits innate immune responses in the lungs in mice // *PLoS One.* — 2010. — Vol. 5. — P. e9631.
62. Oliveira-Marques V., Marinho H. S., Cyrne L., Antunes F. Role of hydrogen peroxide in NF-kappaB activation: from inducer to modulator // *Antioxid. Redox Signal.* — 2009. — Vol. 11 (9). — P. 2223–2243.
63. De Oliveira-Marques V., Cyrne L., Marinho H. S., Antunes F. A quantitative study of NF-kappaB activation by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: relevance in inflammation and synergy with TNF-alpha // *J. Immunol.* — 2007. — Vol. 178 (6). — P. 3893–3902.
64. Sen S. K., Packer L. Antioxidant and redox regulation of gene transcription *FASEB J.* — 1996. — Vol. 10 (7). — P. 709–720.
65. Meyer M., Pahl H. L., Baeuerle P. A. Regulation of the transcription factors NF-kappa B and AP-1 by redox changes // *Chem. Biol. Interact.* — 1994. — Vol. 91 (2–3). — P. 91–100.
66. Meyer M., Schreck R., Baeuerle P. A. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and antioxidants have opposite effects on activation of NF-kappa B and AP-1 in intact cells: AP-1 as secondary antioxidant-responsive factor // *EMBO J.* — 1993. — Vol. 12 (15). — P. 2005–2015.
67. Abate C., Patel L., Rauscher F. et al. Redox regulation of fos and jun DNA-binding activity *in vitro* // *Science.* — 1990. — Vol. 249 (4973). — P. 1157–1161.
68. Kamata H., Hirata H. Redox regulation of cellular signaling // *Cell. Signal.* — 1999. — Vol. 11 (1). — P. 1–4.
69. Adler V., Yin Z., Fuchs S. Y. et al. Regulation of JNK signaling by GSTp // *EMBO J.* — 1999. — Vol. 18 (5). — P. 1321–1334.
70. Angel P., Karin M. The role of Jun, Fos, and the AP-1 complex in cell-proliferation and transformation // *Biochim. Biophys. Acta.* — 1991. — Vol. 1072 (2–3). — P. 129–157.
71. Kerppola T. K., Curran T. Zen and the art of Fos and Jun // *Nature.* — 1995. — Vol. 373 (6511). — P. 199–200.
72. Hai T., Curran T. Cross-family dimerization of transcription factors Fos, Jun and ATF/CREB alter DNA-binding specificity // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1991. — Vol. 88 (9). — P. 3720–3724.

73. *Pulver B. J., Hughes K., Franklin C. C. et al.* Co-purification of mitogen-activated protein kinases with phorbol ester-induced c-Jun kinase activity in U937 leukaemic cells // *Oncogene*. – 1993. – Vol. 8 (2). – P. 407–415.
74. *Treisman R.* Journey to the surface of the cell: Fos regulation and the SRE // *EMBO J.* – 1995. – Vol. 14 (20). – P. 4905–4913.
75. *Woodgett J. R., Pulverer B. J., Plyte S. et al.* Nuclear onco-protein targets of signal transduction pathways // *Pigment Cell. Res.* – 1994. – Vol. 7 (2). – P. 96–100.
76. *Armstrong R. N.* Structure, catalytic mechanism, and evolution of the glutathione transferases // *Chem. Res. Toxicol.* – 1997. – Vol. 10 (1). – P. 2–18.
77. *Armstrong R. N.* Mechanistic imperatives for the evolution of glutathione transferases // *Cur. Opin. Chem. Biol.* – 1998. – Vol. 2 (5). – P. 618–623.
78. *Abate C., Luk D., Curran T.* Transcriptional regulation by Fos and Jun *in vitro*: interaction among multiple activator and regulatory domains // *Mol. Cell. Biol.* – 1991. – Vol. 11 (7). – P. 3624–3632.
79. *Xanthoudakis S., Curran T.* Redox regulation of AP-1: a link between transcription factor signaling and DNA repair // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 1996. – Vol. 387 (1). – P. 69–75.
80. *Hirota K., Matsui M., Iwada S. et al.* AP-1 transcriptional activity is regulated by a direct association between thioredoxin and Ref-1 // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1997. – Vol. 94 (8). – P. 3633–3639.
81. *Wei S. J., Botero A., Hirota K. et al.* Thioredoxin nuclear translocation and interaction with redox factor-1 activates the activator protein-1 transcription factor in response to ionizing radiation // *Cancer Res.* – 2000. – Vol. 60 (23). – P. 6688–6695.
82. *Mattson D., Bradbury C. M., Bisht K. S. et al.* Heat shock and the activation of AP-1 and inhibition of NF-kappa B DNA-binding activity: possible role of intracellular redox status // *Int. J. Hyperthermia.* – 2004. – Vol. 20 (2). – P. 224–233.
83. *Ando K., Hirao S., Kabe Y. et al.* A new APE/Ref-1-dependent pathway leading to reduction of NF-kB and AP-1, and activation of their DNA-binding activity // *Nucleic Acids Res.* – 2008. – Vol. 36 (13). – P. 4327–4336.
84. *Moi P., Chan K., Asunis I. et al.* Isolation of NF-E2-related factor 2 (Nrf2), a NF-E2-like basic leucine zipper transcriptional activator that binds to the tandem NF-E2/AP1 repeats of the beta-globin locus control region // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1994. – Vol. 91 (21). – P. 9926–9930.
85. *Itoh K., Chiba T., Takahashi S. et al.* An Nrf/small Maf heterodimer mediates the induction of phase II detoxifying enzyme genes through antioxidant response elements // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1997. – Vol. 236 (2). – P. 313–322.
86. *Borroz K. I., Buetler T. M., Eaton D. L.* Modulation of gamma-glutamylcysteine synthetase large subunit mRNA expression by butylated hydroxyanisole // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 1994. – Vol. 126 (1). – P. 150–155.
87. *Liu R. M., Hu H., Robison T. W., Forman H. J.* Increased gamma-glutamylcysteine synthetase and gamma-glutamyl transpeptidase activities enhance resistance of rat lung epithelial L2 cells to quinone toxicity // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* – 1996. – Vol. 14 (2). – P. 192–197.
88. *Brigelius-Flohe R., Flohe L.* Basic principles and emerging concepts in the redox control of transcription factors // *Antioxidants Redox Signal.* – 2011. – Vol. 15 (8). – P. 2335–2381.
89. *Eggler A. L., Gay K. A., Mesacar A. D.* Molecular mechanisms of natural products in chemoprevention: induction of cytoprotective enzymes by Nrf2 // *Mol. Nutr. Food. Res.* – 2008. – Vol. 52 (1). – P. S84–S94.

90. Surh Y. J., Kundu J. K., Na H. K. Nrf2 as master redox switch in turning on the cellular signaling involved in the induction of cytoprotective genes by some chemopreventive phytochemicals // *Planta Med.* – 2008. – Vol. 74 (13). – P. 1526–1539.
91. Li W., Kong A. N. Molecular mechanisms of Nrf2-mediated antioxidant response // *Mol. Carcinog.* – 2009. – Vol. 48 (2). – P. 91–104.
92. Boutten A., Goven D., Boczkowski J., Bonay M. Oxidative stress targets in pulmonary emphysema: focus on the Nrf2 pathway // *Expert. Opin. Ther. Targets.* – 2010. – Vol. 14 (3). – P. 329–346.
93. Nitire S. K., Kaspar J. W., Shen J., Jaiswal A. K. Nrf2 signaling and cell survival // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2010. – Vol. 244 (1). – P. 37–42.
94. Dinkova-Kostova A. T., Liby K. T., Stephenson K. K. et al. Extremely potent triterpenoid inducers of the phase 2 response: correlations of protection against oxidant and inflammatory stress // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2005. – Vol. 102 (12). – P. 4584–4589.
95. Ahn Y.-H., Hwang Y., Liu H. et al. Electrophilic tuning of the chemoprotective nature product sulforaphane // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2010. – Vol. 107 (21). – P. 9590–9595.
96. Zhang D. D., Hannink M. Distinct cysteine residues in Keap1 are required for Keap1-dependent ubiquitination of Nrf2 and for stabilization of Nrf2 by chemopreventive agents and oxidative stress // *Mol. Cell. Biol.* – 2003. – Vol. 23 (22). – P. 8137–8151.
97. Wakabayashi N., Dinkova-Kostova A. T., Holtzclaw W. D. et al. Protection against electrophile and oxidant stress by induction of the phase 2 response: fate of cysteines of the Keap1 sensor modified by inducers // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2004. – Vol. 101 (7). – P. 2040–2045.
98. Levonon A. L., Landar A., Ramachandran A. et al. Cellular mechanisms of redox cell signaling: role of cysteine modification in controlling antioxidant defenses in response to electrophilic lipid oxidation products // *Biochem. J.* – 2004. – Vol. 378 (2). – P. 373–382.
99. Huang H. C., Nguyen T., Pickett C. B. Phosphorylation of Nrf2 at Ser-40 by protein kinase C regulates antioxidant response element-mediated transcription // *J. Biol. Chem.* – 2002. – Vol. 277 (45). – P. 42769–42774.
100. Nitire S. K., Jain A. K., Jaiswal A. K. Antioxidant-induced modification of Nrf2 cysteine 151 and PKC-delta-mediated phosphorylation of Nrf2 serine 40 are both required for stabilization and molecular translocation of Nrf2 and increased drug resistance // *J. Cell Sci.* – 2009. – Vol. 122 (Pt24). – P. 4452–4464.
101. Dhakshinamoorthy S., Jain A. K., Bloom D. A., Jaiswal A. K. Bach1 competes with Nrf2 leading to negative regulation of the antioxidant response element (ARE)-mediated NAD (P)H:quinone oxidoreductase 1 gene expression and induction in response to antioxidants // *J. Biol. Chem.* – 2005. – Vol. 280 (17). – P. 16891–16900.
102. Ishikawa M., Numazawa S., Yoshida T. Redox regulation of the transcriptional repressor Bach1 // *Free Radic. Biol. Med.* – 2005. – Vol. 38 (10). – P. 1344–1352.
103. Kang K. W., Lee S. J., Park J. W., Kim S. G. Phosphatidylinositol 3-kinase regulates nuclear translocation of NF-E2-related factor 2 through actin rearrangement in response to oxidative stress // *Mol. Pharmacol.* – 2002. – Vol. 62 (5). – P. 1001–1010.
104. Kaspar J. W., Jaiswal A. K. An autoregulatory loop between Nrf2 and Cul3-Rbx1 controls their cellular abundance // *J. Biol. Chem.* – 2010. – Vol. 285 (28). – P. 21349–21358.

105. Flohe L., Brigelius-Flohe R. Selenoproteins of the glutathione system P. Selenium: its molecular biology and role in human health D. L. Hatfield (ed.). – Boston, Dordrecht, London: P. Kluwer Academic Publishers, 2001. – P. 157–178.
106. Hayes J. D., Flanagan J. U., Jowsey I. R. Glutathione transferases // Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. – 2002. – Vol. 45 (1). – P. 51–88.
107. Banning A., Deubel S., Kluth D. et al. The GI-GPx gene is target for Nrf2 // Mol. Cell. Biol. – 2005. – Vol. 25 (12). – P. 4914–4923.
108. Ishii T., Yanagawa T. (eds.) Stress-induced peroxiredoxins Subcell. // Biochem. – 2007. – Vol. 44. – P. 375–384.
109. Alam J., Stewart D., Touchard C. et al. Nrf2, a Cap'n`Collar transcription factor, regulates induction of the heme oxygenase-1 gene // J. Biol. Chem. – 1999. – Vol. 274 (37). – P. 26071–26078.
110. Banning A., Deubel S., Kluth D. et al. The GI-GPx gene is a target for Nrf2 // Mol. Cell. Biol. – 2005. – Vol. 26 (12). – P. 4914–4923.
111. Favreau L. V., Pickett C. B. The rat quinone reductase antioxidant response element. Identification of the nucleotide sequence required for basal and inducible activity and detection of antioxidant response element-binding proteins in hepatoma and non-hepatoma cell lines // J. Biol. Chem. – 1995. – Vol. 270 (41). – P. 24468–24474.
112. Ishii T., Itoh K., Takachashi S. et al. Transcription factor Nrf2 coordinately regulates a group of oxidative stress-inducible genes in macrophages // J. Biol. Chem. – 2000. – Vol. 275 (21). – P. 16023–16029.
113. Kwak M. K., Wakabayashi N., Greenlaw J. L. et al. Antioxidants enhance mammalian proteasome expression through the Keap1–Nrf2 signaling pathway // Mol. Cell. Biol. – 2003. – Vol. 23 (23). – P. 8786–8794.
114. Pietsch E. C., Chan J. Y., Torti F. M., Torti S. V. Nrf2 mediates the induction of ferritin H in response to xenobiotics and cancer chemopreventive dithiolethiones // J. Biol. Chem. – 2003. – Vol. 278 (4). – P. 2361–2369.
115. Tsuji Y., Ayaki H., Whitman S. P. et al. Coordinate transcriptional and translational regulation of ferritin in response to oxidative stress // Mol. Cell Biol. – 2000. – Vol. 20 (16). – P. 5818–5827.
116. Zhu H., Itoh K., Yamamoto M. et al. Role of Nrf2 signaling in regulation of antioxidants and phase 2 enzymes in cardiac fibroblasts: protection against reactive oxygen and nitrogen species-induced cell injury // FEBS Lett. – 2005. – Vol. 579 (14). – P. 3029–3036.
117. Zhu H., Jia Z., Zhang L. et al. Antioxidants and phase 2 enzymes in macrophages.: regulation by Nrf2 signaling and protection against oxidative and electrophilic stress // Exp. Biol. Med. – 2008. – Vol. 233 (4). – P. 463–474.
118. Klaassen C. D., Reisman S. A. Nrf2 the rescue: effects of the antioxidant/electrophilic response on the liver // Toxicol. Appl. Pharmacol. – 2010. – Vol. 244 (1). – P. 57–65.
119. Kim J., Cha Y. N., Surh Y. J. A protective role of nuclear factor-erythroid 2-related factor-2 (Nrf2) in inflammatory disorders // Mutat. Res. – 2010. – Vol. 690 (1–2). – P. 12–23.
120. Dong J., Sulik K. K., Chen S.-J. Nrf2-mediated transcriptional induction of antioxidant response in mouse embryos exposed to ethanol *in vivo*: implications for the prevention of fetal alcohol spectrum disorders // Antioxid. Redox Signal. – 2008. – Vol. 10 (12). – P. 2023–2033.

121. Kwak M. K., Wakabayashi N., Itoh K. et al. Modulation of gene expression by cancer chemopreventive dithiolethiones through the Keap1-Nrf2 pathway. Identification of novel gene cluster for cell survival // *J. Biol. Chem.* – 2003. – Vol. 278 (10). – P. 8135–8145.
122. Toledano M. B. The guardian recruits cops: the p53-p21 axis delegates prosurvival duties to the Keap1-Nrf2 stress pathway // *Mol. Cell.* – 2009. – Vol. 34 (6). – P. 637–639.
123. Harvey C. J., Thimmulappa R. K., Singh A. et al. Nrf2-regulated glutathione recycling independent of biosynthesis is critical for cell survival during oxidative stress // *Free Radic. Biol. Med.* – 2009. – Vol. 46 (4). – P. 443–453.
124. Hayes J. D., McLellan L. I. Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a co-ordinately regulated defense against oxidative stress // *Free Radic. Res.* – 1999. – Vol. 31 (4). – P. 273–300.
125. Lee T. D., Yang H., Whang J., Lu S. C. Cloning and characterization of the human glutathione synthetase 5'-flanking region // *Biochem. J.* – 2005. – Vol. 390 (2). – P. 521–528.
126. Lu S. C. Regulation of glutathione synthesis // *Mol. Aspects Med.* – 2009. – Vol. 30 (1-2). – P. 42–59.
127. Moinova H. R., Mulcahy R. T. An electrophile responsive element (EpRE) regulates beta-naphthoflavone induction of the human gamma-glutamylcysteine synthetase regulatory subunit gene. Constitutive expression is mediated by an adjacent AP-1 site // *J. Biol. Chem.* – 1998. – Vol. 273 (24). – P. 14683–14689.
128. Mulcahy R. T., Gipp J. J. Identification of a putative antioxidant response element in the 5'-flanking region of the human gamma-glutamylcysteine synthetase heavy subunit gene // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1995. – Vol. 209 (1). – P. 227–233.
129. Wild A. C., Mulcahy R. T. Regulation of gamma-glutamylcysteine synthetase subunit gene expression: insights into transcriptional control of antioxidant defenses // *Free Radic. Res.* – 2000. – Vol. 32 (4). – P. 281–301.
130. Hagashi A., Suzuki H., Itoh K. et al. Transcription factor Nrf2 is required for the constitutive and inducible expression of multidrug resistance-associated protein 1 in mouse embryo fibroblasts // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2003. – Vol. 310 (3). – P. 824–829.
131. Itoh K., Hayashi N., Satoh K. et al. An/Nrf2 small Maf heterodimer mediates the induction of phase II detoxifying enzyme gene through antioxidant response elements // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1997. – Vol. 236 (2). – P. 313–322.
132. McMahon M., Itoh K., Yamamoto M. et al. The Cap'n`Collar basic leucine zipper transcription factor Nrf2 (NF-E2 p45-related factor 2) controls both constitutive and inducible expression of intestinal detoxification and glutathione biosynthetic enzymes // *Cancer Res.* – 2001. – Vol. 61 (8). – P. 3299–3307.
133. Ramos-Gomez M., Kwak M. K., Dolan P. M. et al. Sensitivity to carcinogenesis is increased and chemoprotective efficacy of enzyme inducers is lost in Nrf2 transcription factor-deficient mice // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2001. – Vol. 98 (6). – P. 3410–3415.
134. Sasaki H., Sato H., Kuriyama-Matsumura K. et al. Electrophile response element-mediated induction of the cystine/glutamate exchange transporter gene expression // *J. Biol. Chem.* – 2002. – Vol. 277 (47). – P. 44765–44771.



135. Thimmulappa R. K., Mai K. H., Srisuma S. et al. Identification of Nrf2-regulated genes induced by the chemopreventive agent sulforaphane by oligonucleotide microarray // *Cancer Res.* – 2002. – Vol. 62 (18). – P. 5196–5203.
136. Hu R., Xu C., Shen G. et al. Gene expression profiles induced by cancer chemopreventive isothiocyanate sulforaphane in the liver of C57BL/6J mice and C57BL/6J/Nrf2 (-/-) mice // *Cancer Lett.* – 2006. – Vol. 243 (2). – P. 170–192.
137. Rangasamy T., Cho C. Y., Thimmulappa R. K. et al. Genetic ablation of Nrf2 enhances susceptibility to cigarette smoke-induced emphysema in mice // *J. Clin. Invest.* – 2004. – Vol. 114 (9). – P. 1248–1259.
138. Aoki Y., Hashimoto A. H., Amanuma K. et al. Enhanced spontaneous and benzo(a)pyrene-induced mutations in the lung of Nrf2-deficient gpt delta mice // *Cancer Res.* – 2007. – Vol. 67 (12). – P. 5643–5648.
139. Kensler T. W., Wakabayashi N. Nrf2: friend or foe for chemoprevention? // *Carcinogenesis.* – 2010. – Vol. 10 (1). – P. 90–99.
140. Finkel T., Holbrook N. J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing // *Nature.* – 2000. – Vol. 408 (6809). – P. 239–247.
141. Harding H. P., Zhang Y., Zeng H. et al. An integrated stress response regulates amino acid metabolism and resistance to oxidative stress // *Mol. Cell.* – 2003. – Vol. 11 (3). – P. 619–633.
142. Rachakonda G., Sekhar K. R., Jowhar D. et al. Increased cell migration and plasticity in Nrf2-deficient cancer cell lines // *Oncogene.* – 2010. – P. 29 (25). – P. 3703–3714.
143. Beyer T. A., Werner S. The cytoprotective Nrf2 transcription factor controls insulin receptor signaling in the regenerating liver // *Cell Cycle.* – 2008. – Vol. 7 (7). – P. 874–878.
144. Morito N., Yoh K., Itoh K. et al. Nrf2 regulates the sensitivity of death receptor signals by affecting intracellular glutathione levels // *Oncogene.* – 2003. – Vol. 22 (58). – P. 9275–9281.
145. Aleksunes L. M., Manautou J. E. Emerging role of Nrf2 in protecting against hepatic and gastrointestinal disease // *Toxicol. Pathol.* – 2007. – Vol. 35 (4). – P. 459–473.
146. Itoh K., Mochizuki M., Ishii Y. et al. Transcription factor Nrf2 regulates inflammation by mediating the effect of 15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J<sub>2</sub> // *Mol. Cell. Biol.* – 2004. – Vol. 24 (1). – P. 36–45.
147. Wang H., Khor T. O., Saw C. L. et al. Role of Nrf2 in suppressing LPS-induced inflammation in mouse peritoneal macrophages by polyunsaturated fatty acids docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid // *Mol. Pharm.* – 2010. – Vol. 7 (6). – P. 2185–2193.
148. Kensler T. W., Wakabayashi N., Biswal S. Cell survival responses to environmental stress via the Keap1-Nrf2-ARE pathway // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* – 2007. – Vol. 47. – P. 89–116.
149. Wakabayashi N., Slocum S. L., Skoko J. J. et al. When NRF2 talks, who's listening? // *Antioxid. Resox Signal.* – 2010. – Vol. 13 (11). – P. 1649–1663.
150. Rao V. A., Klein S. R., Bonar S. J. et al. The antioxidant transcription factor Nrf2 negatively regulates autophagy and growth arrest induced by the anticancer redox agent mitoquinone // *J. Biol. Chem.* – 2010. – Vol. 285 (45). – P. 34447–34459.
151. Komatsu M., Kurokawa H., Waguri S. et al. The selective autophagy substrate p62 activates the stress responsive transcription factor Nrf2 through inactivation of Keap1 // *Nat. Cell. Biol.* 2010. – Vol. 12 (3). – P. 213–223.

152. *Chan K., Lu R., Chang J. C., Kan Y. W.* NRF2, a member of the NFE family of transcription factors, is not essential for murine erythropoiesis, growth, and development // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1996. — Vol. 93 (24). — P. 13943–13948.

153. *Singh A., Ling G., Suhasini A. N.* et al. Nrf2-dependent sulfiredoxin-1 expression protects against cigarette smoke-induced oxidative stress in lung // *Free Radic. Biol. Med.* — 2009. — Vol. 46 (3). — P. 376–386.

154. *Khor T. O., Huang M. T., Kwon K. H.* et al. Nrf2-deficient mice have an increased susceptibility to dextran sulfate sodium-induced colitis // *Cancer Res.* — 2006. — Vol. 66 (24). — P. 11580–11584.

155. *Osburn W. O., Karim B., Dolan P. M.* et al. Increased colonic inflammatory injury and formation of aberrant crypt foci in Nrf2-deficient mice upon dextran sulfate treatment // *Int. J. Cancer.* — 2007. — Vol. 121 (9). — P. 1883–1891.

156. *Cornblatt B. S., Ye L., Dinkova-Kostova A. T.* et al. Preclinical and clinical evaluation of sulforaphane for the chemoprevention in the breast // *Carcinogen.* — 2007. — Vol. 28 (7). — P. 1485–1490.

157. *Egner P. A., Chen J. G., Wang J. B.* et al. Bioavailability of sulforaphane from two broccoli sprout beverages: results of a short-term crossover clinical trial in Qidong, China // *Cancer Prev. Res.* — 2011. — Vol. 4 (3). — P. 384–395.

158. *Zhang Y., Talalay P., Cho C. G., Posner G. H.* A major inducer of anticarcinogenic protective enzymes from broccoli-isolation and elucidation of structure // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1992. — Vol. 89 (6). — P. 2399–2403.

159. *Zhang Y., Kensler T. W., Cho C. G.* et al. Anticarcinogenic activities of sulforaphane and structurally related synthetic norbornyl isothiocyanates // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1994. — Vol. 91 (8). — P. 3147–3150.

160. *Conaway C. C., Wang C.-X., Pittman B.* et al. Phenethyl isothiocyanate and sulforaphane and their N-acetylcysteine conjugates inhibit malignant progression of lung adenomas induced by tobacco carcinogens in A // *J. mice Cancer Res.* — 2005. — Vol. 65 (18). — P. 8548–8557.

161. *Kong L., Tanito M., Huang Z.* et al. Delay of photoreceptor degeneration in tubby mouse by sulforaphane // *J. Neurochem.* — 2007. — Vol. 101 (4). — P. 1041–1052.

162. *Talay P., Fahey J. W., Healy Z. R.* et al. Sulforaphane mobilizes cellular defenses that protect skin against damage by UV radiation // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2007. — Vol. 104 (44). — P. 17500–17505.

163. *Dinkova-Kostova A. T., Jenkins S. N., Fahey J. W.* et al. Protection against UV-light-induced skin carcinogenesis in SKH-1 high-risk mice by sulforaphane-containing Broccoli Sprout extracts // *Cancer Lett.* — 2006. — Vol. 240 (2). — P. 243–252.

164. *Dinkova-Kostova A. T., Fahey J. W., Wade K. L.* et al. Induction of the phase 2 response in mouse and human skin by sulforaphane-containing Broccoli Sprout extracts // *Cancer Epidem. Biomar. Prevent.* — 2007. — Vol. 16 (4). — P. 847–851.

165. *Dinkova-Kostova A. T., Massiah M. A., Bozak R. E.* et al. Potency of Michael reaction acceptors as inducers of enzymes that protect against carcinogenesis depends on their reactivity with sulfhydryl groups // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2001. — Vol. 98 (6). — P. 3404–3409.

166. *Dinkova-Kostova A. T., Holtzclaw W. D., Cole R. N.* et al. Direct evidence that sulfhydryl groups of Keap1 are the sensors regulating induction of phase 2 enzymes that protect against carcinogens and oxidants // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2002. — Vol. 99 (18). — P. 11908–11913.

167. Hong F., Freeman M. L., Liebler D. C. Identification of sensor cysteines in human Keap1 modified by the cancer chemopreventive agent sulforaphane // *Chem. Res. Toxicol.* – 2005. – Vol. 18 (12). – P. 1917–1926.
168. Ho E., Clarke J. D., Dashwood R. H. Dietary sulforaphane, a histone deacetylase inhibitor for cancer prevention // *J. Nutr.* – 2009. – Vol. 139 (12). – P. 2393–2396.
169. Heiss E., Herhaus C., Klimo K. et al. Nuclear factor kB is molecular target for sulforaphane-mediated anti-inflammatory mechanisms // *J. Biol. Chem.* – 2001. – Vol. 276 (34). – P. 32008–32015.
170. Habeos I. G., Ziros P. G., Chartoumpekis D. et al. Simvastatin activates Keap1/Nrf2 signaling in rat liver // *J. Mol. Med.* – 2008. – Vol. 86 (11). – P. 1279–1285.
171. Spencer S. R., Xue L. A., Klenz E. M., Talalay P. The potency of inducers of NAD (P)H: (quinone-acceptor) oxidoreductase parallels their efficiency as substrates for glutathione transferases. Structure and electronic correlations // *Biochem. J.* – 1991. – Vol. 273 (3). – P. 711–717.
172. Talalay P., De Long M. J., Prochaska H. J. Identification of a common chemical signal regulating the induction of enzymes that protect against chemical carcinogens // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1988. – Vol. 85 (21). – P. 8261–8265.
173. Kabe Y., Ando K., Hirao S. et al. Redox regulation of NF-kappa B activation: distinct redox regulation between the cytoplasm and the nucleus // *Antioxid. Redox Signal.* – 2005. – Vol. 7 (3–4). – P. 395–403.
174. Jung Y., Kim H., Min S. H. et al. Dynein light chain LC8 negatively regulates NF-kappa B through the redox-dependent interaction with IkappaBalpha // *J. Biol. Chem.* – 2008. – Vol. 283 (35). – P. 23863–23871.
175. Saito M., Nishitoh H., Fujii M. et al. Mammalian thioredoxin is a direct inhibitor of apoptosis signal-regulating kinase (ASK) 1 // *EMBO J.* – 1998. – Vol. 17 (9). – P. 2596–2606.
176. Tell G., Quadrifoglio F., Tiribelli C., Kelley M. R. The many functions of APE1/Ref-1: not only a DNA repair enzyme // *Antioxid. Redox Signal.* – 2009. – Vol. 11 (3). – P. 601–620.
177. Townsend D. M., Tew K. D. The role of glutathione-S-transferase in anti-cancer drug resistance // *Oncogene.* – 2003. – Vol. 22 (47). – P. 7369–7375.
178. Xanthoudakis S., Curran T. Identification and characterization of Ref-1, a nuclear protein that facilitates AP-1DNA-binding activity // *EMBO J.* – 1992. – Vol. 11 (2). – P. 653–665.
179. Rachakonda G., Xiong Y., Sekhar K. R. et al. Covalent modification at Cys 151 dissociates the electrophile sensor Keap-1 from ubiquitin ligase CUL3 // *Chem. Res. Toxicol.* – 2008. – Vol. 21 (3). – P. 705–710.
180. Fleming C. R., Billiard S. M., Di Giulio R. T. Hypoxia inhibits induction of aryl hydrocarbon receptor activity in topminnow hepatocarcinoma cells in an ARNT-dependent manner // *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.* – 2009. – Vol. 150 (3). – P. 383–389.
181. Funato Y., Michiue T., Asashima M., Miki H. The thioredoxin-related redox-regulating protein nucleoredoxin inhibits Wnt-beta-catenin signaling through dishvelled // *Nat Cell Biol.* – 2006. – Vol. 8 (5). – P. 501–508.
182. Huang R. P., Adamson E. D. Characterization of the DNA-binding properties of the early growth response-1 (Egr-1) transcription factor: evidence for modulation by a redox mechanism. // *DNA Cell Biol.* – 1993. – Vol. 12 (3). – P. 265–273.

183. De Keizer P. L. J., Burgering B. M. T., Dansen T. B. Forkhead Box O as a sensor, mediator, and regulator of redox signaling // *Antioxid. Redox Signal.* – 2011. – Vol. 14 (6). – P. 93–97.
184. Grippo J. F., Holmgren A., Pratt W. B. Proof that the endogenous, heat-stable glucocorticoid receptor-activating factor is thioredoxin // *J. Biol. Chem.* – 1985. – Vol. 260 (1). – P. 93–97.
185. Gorlach A., Kietzman T. Superoxide and derived reactive oxygen species in the regulation of hypoxia-inducible factors // *Methods Enzymol.* – 2007. – Vol. 435 (7). – P. 421–446.
186. Keitzman T., Gotlach A. Reactive oxygen species in the control of hypoxia-inducible gene expression // *Semin. Cell Dev. Biol.* – 2005. – Vol. 16 (4–5). – P. 474–486.
187. Liu Q., Berchner-Pfannschmidt U., Moller U. et al. A Fenton reaction at the endoplasmic reticulum is involved in the redox control of hypoxia-inducible gene expression // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2004. – Vol. 101 (12). – P. 4302–4307.
188. Sablina A. A., Budanov A. V., Ilyinskaya G. V. et al. The antioxidant function of the p53 tumor suppressor // *Nat. Med.* – 2005. – Vol. 11 (12). – P. 1306–1313.
189. Cao X., Kambe F., Ohmori S., Seo H. Oxidoreductive modification of two cysteine residues in paired domain by Ref-1 regulates DNA-binding activity of Pax-8 // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2002. – Vol. 297 (2). – P. 288–293.
190. Scaloni A., Tell G. Mass spectrometry approaches for the redox characterization of protein cysteine residues the case of the transcription factor Pax-8 // *Methods Enzymol.* – 2010. – Vol. 473. – P. 227–250.
191. Tell G., Zecca A., Pellizzari L. et al. An «environment to nucleus» signaling system operates in B lymphocytes: redox status modulates BSAP/Pax-5 activation through Ref-1 nuclear translocation // *Nucleic Acids Res.* – 2000. – Vol. 28 (5). – P. 1099–1105.
192. Webster K. A., Prentice H., Bishopric N. H. Oxidation of zinc finger transcription factors: physiological consequences // *Antioxid. Redox Signal.* – 2001. – Vol. 3 (4). – P. 535–548.
193. Wu X., Bishopric N. H., Discher D. J. et al. Physical and functional sensitivity of zinc finger transcription factors to redox change // *Mol. Cell. Biol.* – 1996. – Vol. 16 (3). – P. 1035–1046.
194. Prognonec P., Kato H., Roeder R. G. The helix-loop-helix/leucine repeat transcription factor USF can be functionally regulated in a redox-dependent manner // *J. Biol. Chem.* – 1992. – Vol. 267 (34). – P. 24563–24567.
195. Marmillot P., Scovell W. Enhancement of transcription factor, USF, binding to the adenovirus major late promoter: effect of dithiothreitol and high mobility group protein-1 // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1998. – Vol. 1395 (2). – P. 228–236.
196. Lu M., Kim H. E., Li C. R. et al. Two distinct disulfide bonds formed in human heat shock transcription factor 1 act in opposition to regulate its DNA binding activity // *Biochemistry.* – 2008. – Vol. 47 (22). – P. 6007–6015.
197. Erickson J. R., He J., Grumbach I. M., Anderson M. E. CaMKII in the cardiovascular system: sensing redox states // *Physiol. Rev.* 2011. – Vol. 91 (3). – P. 889–915.
198. Guttmann R. P. Redox regulation of cysteine-dependent enzymes // *J. Anim. Sci.* – 2009. – Vol. 88 (4). – P. 1296–1306.
199. Denu J. M., Tanner K. G. Specific and reversible inactivation of protein tyrosine phosphatases by hydrogen peroxide: evidence for a sulfenic acid intermediate and implications for redox regulation // *Biochem.* – 1998. – Vol. 37 (16). – P. 5633–5642.

200. Konorev E. A., Kalyanaraman B., Hogg N. Modification of creatine kinase by S-nitrosothiols: S-nitrosation vs. S-thiolation // *Free Radic. Biol. Med.* – 2000. – Vol. 28 (11). – P. 1671–1678.
201. Reddy S., Jones A. D., Cross C. E. et al. Inactivation of creatine kinase by S-glutathionylation of the active-site cysteine residue // *Biochem. J.* – 2000. – Vol. 347 (3). – P. 821–817.
202. Liu Y. M., Feng S., Zhao T. J. et al. The conserved Cys254 plays a crucial role in creatine kinase refolding under non-reduced conditions but not in its activity or stability // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2008. – Vol. 1784 (12). – P. 2071–2078.
203. Guttman R. P., Elce J. S., Bell P. D. et al. Oxidation inhibits substrate proteolysis by calpain 1 but not autolysis // *J. Biol. Chem.* – 1997. – Vol. 272 (3). – P. 2005–2012.
204. Guttman R. P., Johnson G. V. W. Oxidative stress inhibits calpain activity *in situ* // *J. Biol. Chem.* – 1998. – Vol. 273 (21). – P. 13331–13338.
205. Koh T. J., Tidball J. G. Nitric oxide inhibits calpain-mediated proteolysis of talin in skeletal muscle cells // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* – 2000. – Vol. 279 (3). – P. C806–C812.
206. Henschler D. The origin of hormesis: historical background and driving forces // *Hum. Exp. Toxicol.* – 2006. – Vol. 25 (7). – P. 347–351.
207. Maher J., Yamamoto M. The rise of antioxidant signaling – the evolution of hormetic actions of Nrf2 // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2010. – Vol. 244 (1). – P. 4–15.
208. Mattson M. P. Hormesis defined // *Ageing Res. Rev.* – 2008. – Vol. 7 (1). – P. 1–7.
209. Kendig E. L. Defining hormesis: evaluation of a complex concentration response phenomenon // *Inter. J. Toxicol.* – 2010. – Vol. 29 (3). – P. 235–246.
210. Плужников Н. Н., Накатис Я. А., Хурцилава О. Г. и др. Заявка на изобретение 2011117179 от 26.04.2011 «Способ лечения острой ангины (острого тонзиллита)».
211. Zmijewski J. W., Lorne E., Zhao X. et al. Antiinflammatory effects of hydrogen peroxide in neutrophil activation and acute lung injury // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2009. – Vol. 178 (8). – P. 694–704.
212. Bartz R. R., Piantadosi C. A. Clinical review: oxygen as signaling molecule // *Crit. Care.* – 2010. – Vol. 14 (5). – P. 234.
213. Auten R. L., Davis J. M. Oxygen toxicity and reactive oxygen species: the devil is in the details // *Pediatr. Res.* – 2009. – Vol. 66 (2). – P. 121–127.
214. Goldstein B. J., Ahmad F., Ding W. et al. Regulation of the insulin signaling pathway by cellular protein-tyrosine phosphatases // *Mol. Cell. Biochem.* – 1998. – Vol. 182 (1–2). – P. 91–99.
215. Galic S., Klingler-Hoffman M., Fodero-Tavoletti M. T. et al. Regulation of insulin receptor signaling by the protein tyrosine phosphatases TCPTP // *Mol. Cell. Biol.* – 2003. – Vol. 23 (6). – P. 2096–2108.
216. Hsu M.-F., Meng T.-C. Enhancement of insulin responsiveness by nitric oxide-mediated inactivation of protein-tyrosine phosphatases // *J. Biol. Chem.* – 2010. – Vol. 285 (11). – P. 7919–7928.
217. Mattila E., Auvinen K., Salmi M., Ivaska J. The protein tyrosine phosphatase TCPTP controls VEGFR2 signaling // *J. Cell. Sci.* – 2008. – Vol. 121 (21). – P. 35370–35380.
218. Goldstein B. J. Tyrosine phosphoprotein phosphatases. – Oxford: Oxford University Press, 1998. – 272 p.

219. *Fauman E. B., Saper M. A.* Structure and function of the protein tyrosine phosphatases *Trends Biochem. Sci.* – 1996. – Vol. 21 (11). – P. 413–417.
220. *Forman H. J., Maiorino M., Ursini F.* Signaling functions of reactive oxygen species // *Biochemistry.* – 2010. – Vol. 49 (5). – P. 835–842.
221. *Klatt P., Lamas S.* Regulation of protein function by S-glutathiolation in response to oxidative and nitrosative stress *Eur. J. // Biochem.* – 2000. – Vol. 276 (16). – P. 4928–4944.
222. *Rhee S. G., Kang S. W., Jeong W.* et al. Intracellular messenger function of hydrogen peroxide and its regulation by peroxiredoxins // *Curr. Opin. Cell. Biol.* – 2005. – Vol. 17 (2). – P. 183–189.
223. *Kalinina E. V., Chernov N. N., Saprin A. N.* Involvement of thio-, peroxi-, and glutaredoxins in cellular redox-dependent processes // *Biochemistry.* – 2008. – Vol. 73. – P. 1493–1510.
224. *Gius D., Botero A., Shah S., Curry H. A.* Intracellular oxidation/reduction status in the regulation of transcription factors NF-kappaB and AP-1 // *Toxicol. Lett.* – 1999. – Vol. 106 (2–3). – P. 93–106.
225. *Zheng M., Aslund F., Storz G.* Activation of the OxyR transcription factor by reversible disulfide bond formation // *Science.* – 1998. – Vol. 279 (5357). – P. 1718–1722.
226. *Rhee S. G.* Redox signaling: hydrogen peroxide as intracellular messenger // *Exp. Mol. Med.* – 1999. – Vol. 31 (2). – P. 53–59.
227. *Finkel T.* Redox-dependent signal transduction // *FEBS Lett.* – 2000. – Vol. 476 (1–2). – P. 52–54.
228. *Herrlich P., Bohmer F. D.* Redox regulation of signal transduction in mammalian cells // *Biochem. Pharmacol.* – 2000. – Vol. 59 (1). – P. 35–41.
229. *Finkel T.* Reactive oxygen species and signal transduction // *IUBMB Life.* – 2001. – Vol. 52 (1–2). – P. 3–6.
230. *Suzuki Y. J., Forman H. J., Sevanian A.* Oxidants as stimulators of signal transduction // *Free Radic. Biol. Med.* – 1997. – Vol. 22 (1–2). – P. 269–285.
231. *Bae G. U., Seo D. W., Kwon H. K.* et al. Hydrogen peroxide activates p70s6k signaling pathway // *J. Biol. Chem.* – 1999. – Vol. 274 (46). – P. 32596–32602.
232. *Veal E., Day A.* Hydrogen peroxide as signaling molecule // *Antioxid. Redox Signal.* – 2011. – Vol. 15 (1). – P. 147–151.
233. *Goldstein B. J., Mahadev K., Wu X.* et al. Role of insulin-induced reactive oxygen species in the insulin signaling pathway // *Antioxid. Redox Signal.* – 2005. – Vol. 7 (7–8). – P. 1021–1031.
234. *Mahadev K., Motoshima H., Wu X.* The NAD (P)H oxidase homolog Nox4 modulates insulin-stimulated generation of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and plays an integral role in insulin signal transduction // *Mol. Cell. Biol.* – 2004. – Vol. 24 (5). – P. 1844–1854.
235. *Короткина П. Н., Мацкевич Г. Н., Девликанова А. Ш.* и др. Сравнительное исследование активности ферментов обмена глутатиона и антиоксидантных ферментов в злокачественных и доброкачественных опухолях легких человека // *Бюлл. эксперимент. биол. мед.* – 2002. – Vol. 133 (6). – P. 697–700.
236. *Lobus E., Loscalzo J., Handy E.* Glutathione peroxidase-1 in health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities // *Antioxid. Redox Signal.* – 2011. – Vol. 15 (7). – P. 1957–1997.
237. *Grant C. M.* Regulation of translation by hydrogen peroxide // *Antioxid. Redox Signal.* – 2011. – Vol. 15 (1). – P. 191–202.

238. Mahadev K., Wu X., Zilbering A. et al. Hydrogen peroxide generated during cellular insulin stimulation is integral to activation of the insulin signaling cascade in 3T3-L1 adipocytes // *J. Biol. Chem.* – 2001. – Vol. 276 (52). – P. 48662–48669.

239. Mahadev K., Zilbering A., Zhu L., Goldstein B. J. Insulin-stimulated generation of hydrogen peroxide reversibly inhibits PTP1B and enhances the early insulin action cascade // *J. Biol. Chem.* – 2001. – Vol. 276 (24). – P. 21938–21942.

240. Маслов А. К., Лужнова С. А., Калянина О. В. Влияние пероксидазы в комплексе с основными противолепрозными средствами на функциональные способности фагоцитов, состояние печени и картину крови мышей с экспериментальной лепрой // *Бюлл. эксперимент. биол. мед.* – 2001. – Vol. 132 (11). – P. 551–553.

241. Skou J. C. The fourth data lecture. The energy coupled exchange of Na<sup>+</sup> for K<sup>+</sup> across the cell membrane. The Na (+), K (+)-pump // *FEBS Lett.* – 1990. – Vol. 268 (2). – P. 314–332.

242. Skou J. C. The Na,K-ATPase // *J. Bioenerg. Biomembr.* – 1992. – Vol. 24 (3). – P. 249–261.

243. Surridge C. Nobel prizes honour biologists` work on protein energy converters // *Nature.* – 1997. – Vol. 389 (6653). – P. 771.

244. Карелин А. А. Связь стимулируемого инсулином исчезновения неорганического фосфата и синтеза АТФ *in vitro* с действием инсулина на аккумуляцию креатинина в плазматических мембранах из скелетных мышц крыс // *Вопр. мед. химии.* – 1980. – Vol. 26 (2). – P. 220–227.

245. Карелин А. А. Изоляция, идентификация и количественное определение АТФ, синтезируемого препаратом обогащенных плазматическими мембранами частиц из скелетных мышц крысы в присутствии инсулина // *Вопр. мед. химии.* – 1981. – Vol. 27 (5). – P. 679–685.

246. Карелин А. А., Втюрин Б. В. Связь стимулируемого инсулином образования АТФ с действием инсулина на накопление креатина в обогащенных плазматическими мембранами частицах из скелетных мышц крысы // *Вопр. мед. химии.* – 1982. – Vol. 28 (4). – P. 118–123.

247. Карелин А. А., Глоба А. Г., Демидова В. С. АТФ как передатчик и усилитель сигналов ростовых факторов и цитокинов // *Успехи биол. химии.* – 2000. – Vol. 40. – P. 267–308.

248. Low H., Sun I. L., Navas P. et al. Trans-plasmolemma electron transport from cells is a part a differic transferrin reductase system // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1986. – Vol. 193 (3). – P. 1117–1123.

249. Globa A. G., Solovyev A. S., Terentyev A. A. et al. TNF alpha-induced aerobic synthesis of ATP on plasma membranes of target cells. The relation to the expression of the nuclear oncogene c-mic // *Biochem. Mol. Biol. Int.* – 1998. – Vol. 45 (6). – P. 1169–1178.

250. Карелин А. А., Глоба А. Г., Демидова В. С. Плазмомембранный сигналтрандуцирующий АТФ // *Бюлл. эксперимент. биол. мед.* – 1999. – Vol. 128 (7). – P. 4–12.

251. Карелин А. А., Демидова В. С., Глоба А. Г. АТФ как передатчик и усилитель сигналов ростовых факторов и цитокинов III съезд биохимического общества, тез. докл. – СПб., 2002. – С. 78–79.

252. Rosen O. M., Herrera R., Olove Y. et al. Phosphorylation activates the insulin receptor tyrosine protein kinase // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1983. – Vol. 80 (11). – P. 3237–3240.

253. Ullrich A., Schlessinger J. Signal transduction by receptor with tyrosine kinase activity // *Cell*. – 1990. – Vol. 61 (2). – P. 203–212.
254. Krieger-Brauer H. I., Medda P. K., Kather H. Insulin-induced activation of NADPH-dependent  $H_2O_2$  generation in human adipocyte plasma membranes is mediated by *Gai2* // *J. Biol. Chem.* – 1997. – Vol. 272 (15). – P. 10136–10143.
255. Krieger-Brauer H. I., Medda P. K., Sattel B., Kather H. Inhibitory effect of isoproterenol on NADPH-dependent  $H_2O_2$  generation in human adipocyte plasma membranes is mediated by  $\beta\gamma$ -subunits derived from  $G_s$  // *J. Biol. Chem.* – 2000. – Vol. 275 (4). – P. 2486–2490.
256. Maxham C. M., Malbon C. C. Insulin action impaired by deficiency of the G-protein subunit *Gia2* // *Nature*. – 1996. – Vol. 379 (6568). – P. 840–844.
257. Chen J. F., Guo J. H., Maxham C. M. et al. Conditional, tissue-specific expression of Q205L *Gai2* *In vivo* mimics insulin // *J. Mol. Med.* – 1997. – Vol. 75 (4). – P. 283–289.
258. Miller E. W., Tulyathan O., Isacoff E. Y., Chang C. J. Molecular imaging of hydrogen peroxide produced for cell signaling. *Nat Chem Biol.* – 2007. – Vol. 3 (5). – P. 263–267.
259. Remacle J., Raes M., Toussaint O. et al. Low levels of reactive oxygen species as modulators of cell function // *Mutat. Res.* – 1995. – Vol. 316 (3). – P. 103–122.
260. Shadel G. S., Clayton D. A. Mitochondrial transcription initiation. Variation and conservation // *J. Biol. Chem.* – 1993. – Vol. 268 (22). – P. 16083–16086.
261. Bladier C., Wolvetang E. J., Hutchinson P. et al. Response of a primary human fibroblast cell line to  $H_2O_2$ : senescence-like growth arrest or apoptosis? // *Cell Growth Differ.* – 1997. – Vol. 8 (5). – P. 589–598.
262. Davies K. J. The broad spectrum of responses to oxidants in proliferating cells: a new paradigm for oxidative stress // *IUBMB Life*. – 1999. – Vol. 48 (1). – P. 41–47.
263. Matsuzawa A., Ichijo H. Stress-responsive protein kinases in redox-regulated apoptosis signaling // *Antioxid. Redox Signal.* – 2005. – Vol. 7 (3–4). – P. 472–481.
264. Lee H. C., Wei Y. H. Mitochondrial role in life and death of the cell // *J. Biomed. Sci.* – 2000. – Vol. 7 (1). – P. 2–15.
265. Choi K., Kim J., Kim G. W., Choi C. Oxidative stress-induced necrotic cell death via mitochondria-dependent burst of reactive oxygen species // *Curr. Neurovasc. Res.* – 2009. – Vol. 6 (4). – P. 213–222.
266. Wochna A., Niemczyk E., Kurono C. et al. A possible role of oxidative stress in the switch mechanism of the cell death mode from apoptosis to necrosis: studies on CHO cells // *Mitochondrion*. – 2007. – Vol. 7 (1–2). – P. 119–124.
267. Bartz R. R., Piantadosi C. A. Clinical revive: oxygen as a signaling molecule // *Crit. Care*. – 2010. – Vol. 14 (5). – P. 243–242.

#### 1.4. АНТИОКСИДАНТНАЯ ЗАЩИТА БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ

Давно известно, что при концентрации кислорода в атмосферном воздухе более 21% у животных, растений и микроорганизмов наблюдаются токсические эффекты, обусловленные высокой химической реакционной способностью  $O_2$  и его интермедиатов [1–5]. Особенно хорошо знакомы с проблемой токсичности кислорода специалисты отделений реанимации и интенсивной терапии – продолжительное (более двух часов) вдыхание газовой смеси, содержащей более 60% кислорода, всегда сопровождается острым диффузным повреждением легочной ткани [6, 7].



Токсические эффекты  $O_2$  формируются его активными формами и метаболитами, оказывающими разрушительное воздействие на различные биомолекулы (табл. 4, рис. 17).

Таблица 4

## Классификация и основные свойства прооксидантов

Классификационные рубрики	Формы прооксидантов		Время жизни, с	Радиус диффузии, мкм	ОВП, мВ	
	обозначение	название				
Проксиданты		$^1O_2$	Синглетный кислород	$10^{-6}$	0,3	
Активные формы кислорода		$O_2^{\cdot-}$	Супероксидный анион-радикал	$10^{-6}$	0,3	-330
Кислородные радикалы		$HO^{\cdot}$	Гидроксильный радикал	$10^{-9}$	<0,01	+2300
		$HO_2^{\cdot}$	Пергидроксильный радикал	$10^{-3}$	10,0	+1700
Активные кислородные метаболиты		$H_2O_2$	Пероксид водорода			+320
		$NO^{\cdot}$	Оксид азота	$10^{-1}$		+390
Активные радикалы		$RO^{\cdot}$	Алкоксильный радикал	$10^{-6}$	Зависит от R	+1600
		$RO_2^{\cdot}$	Пероксильный радикал	$10^{-1}$	Зависит от R	+1000
Свободный радикал		$R^{\cdot}$	Радикал органического соединения	Зависит от R	Зависит от R	+600
		$Me^{n+}$	Металл переменной валентности			

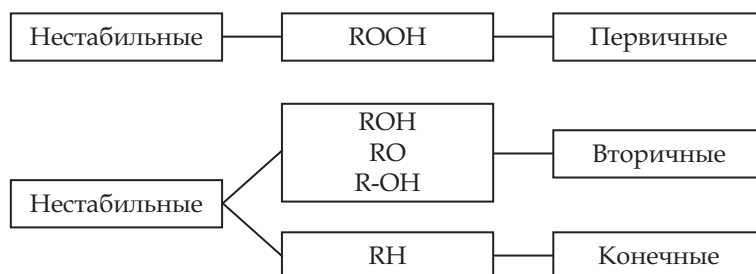


Рис. 17. Продукты свободнорадикального окисления

Постоянное образование прооксидантов в аэробных организмах уравновешено инактивацией их антиоксидантами. Первоначально понятие «антиоксидант» ассоциировалось с веществами-восстановителями, взаимодействующими

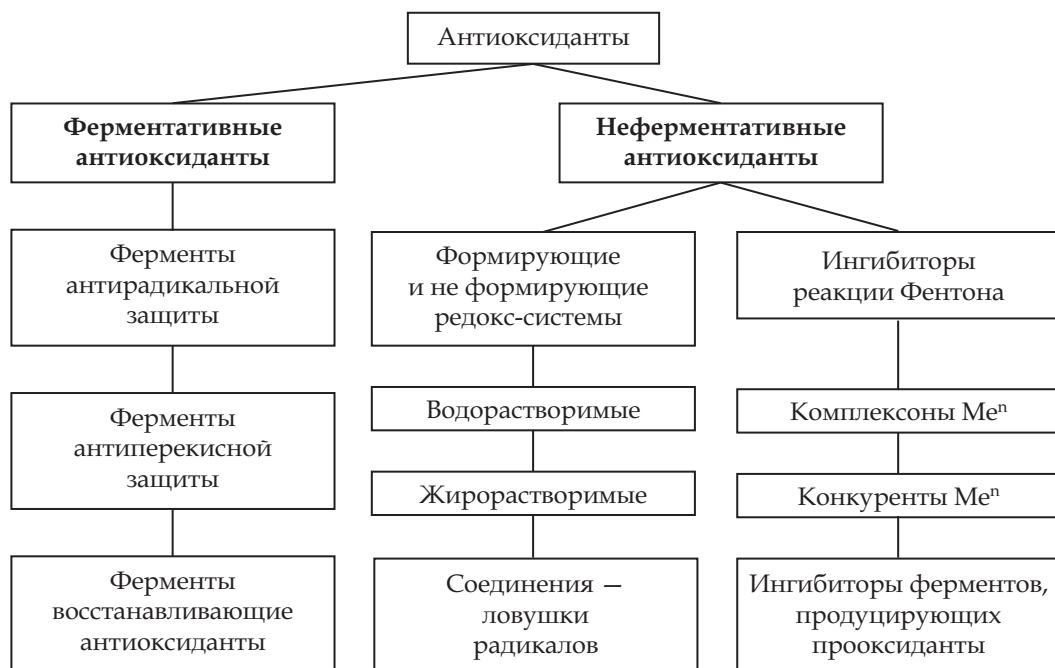


Рис. 18. Классификация антиоксидантов

с органическими радикалами (другими прооксидантами) и таким образом прерывающими цепные реакции неферментативного окисления [8].

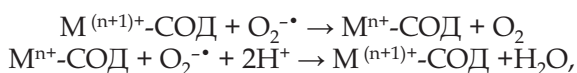
В настоящее время к антиоксидантам относят более широкий класс соединений, тем или иным путем снижающих интенсивность свободнорадикальных процессов (рис. 18). Однако до сих пор существуют терминологические разночтения.

#### 1.4.1. Ферментативные антиоксиданты

В процессе эволюции у аэробов для защиты от активных кислородных радикалов и метаболитов выработалась специализированная система ферментативных антиоксидантов (АО), включающая такие энзимы, как супероксиддисмутаза, глутатионзависимые пероксидазы и трансферазы, каталаза, глутатионредуктаза, метионинредуктаза, пероксиредоксин, гемоксигеназа, биливердинредуктаза, тиоредоксинредуктаза, трансферрин, ферритин, церулоплазмин. Уровни вне- и внутриклеточных ферментативных АО находятся под генетическим контролем [9, 10]. Считается, что воздействия, индуцирующие оксидативный стресс (прерывистая гипоксия, гипероксия), стимулируют экспрессию антиоксидантных энзимов [11–15]. Однако имеются данные и о том, что гиперпродукция прооксидантов – не единственный путь обеспечения индукции синтеза ферментов, контролирующей интенсивность свободнорадикального окисления. В частности, присутствие в организме определенных перфторуглеродов, даже на фоне снижения показателей уровня ПОЛ, сопровождается длительным (до нескольких недель) и выраженным увеличением активности всех основных звеньев ферментативной системы подавления пероксидации [16].

Супероксиддисмутаза (КФ 1.15.1.1) — важнейший фермент антирадикальной защиты.

В организме млекопитающих идентифицировано две изоформы супероксиддисмутазы (СОД): Mn-СОД (СОД2), локализованная в митохондриальном матриксе, и Cu,Zn-СОД двух типов, находящейся либо внутри клеток (в цитозоле и межмембранном пространстве митохондрий) в виде димера (СОД1), либо во внеклеточной жидкости (СОД3) в виде тетрамера [17–20]. Считается, что атомы меди, марганца обеспечивают каталитическую активность фермента, а атом цинка — стабилизацию структуры СОД1 и СОД3. В растворах фермент довольно устойчив — выдерживает нагревание до 100 °С в течение минуты, не теряет активности в широком диапазоне значений pH (от 5,0 до 9,5) [11, 21, 22]. СОД на три-четыре порядка ускоряет реакцию дисмутации  $O_2^{\cdot-}$ , так что детоксикация супероксид-аниона осуществляется с максимально возможной, диффузионно-контролируемой скоростью [23]. СОД-катализируемая дисмутация  $O_2^{\cdot-}$  может быть записана в виде двух полуреакций:



где M = Cu (n=1); Mn (n=2); Fe (n=2); Ni (n=2).

Считается, что биологическая целесообразность ферментативной дисмутации  $O_2^{\cdot-}$  заключается в предупреждении образования пероксинитрита (продукт взаимодействия супероксидного анион-радикала и оксида азота [24]) и недопущении высвобождения ионов железа из трансферрина и ферритина [25–30].

СОД обладает выраженным защитным эффектом при воспалительных и реперфузионных поражениях [31–33], однако имеются определенные препятствия для практического использования фермента [34–39]. В качестве заманчивой альтернативы в последние годы интенсивно прорабатывалась возможность применения в клинической практике салицилатных и кумариновых комплексов меди и марганца, обладающих выраженной СОД-подобной активностью [40–43].

Каталаза (КФ 1.11.1.6) — пероксисомальный фермент, представляющий собой тетрамер четырех идентичных полипептидных цепей, состоящих из 500 остатков аминокислот каждая и имеющих в составе по одной гем-группе [44]. Каталаза обнаруживается во всех аэробных организмах, функционирует в паре с СОД, катализируя восстановительную трансформацию пероксида водорода до воды и кислорода [45]:



Каталаза отличается чрезвычайно высоким числом оборотов в процессе ферментативной активности — обеспечивает разложение миллиона молекул  $H_2O_2$  в течение минуты [46]. Максимальная скорость ферментативной реакции, обеспечиваемой каталазой, не изменяется в диапазоне значений pH 6,8–7,5 [47]. Активность каталазы зависит от отношения числа дисульфидных связей к количеству сульфгидрильных групп в молекуле фермента, редокс-статуса иона железа гем-групп, поэтому активность фермента ингибируется под влиянием ионов тяжелых металлов, геминных ядов и супероксидного анион-радикала [48–51]. Широкому использованию препаратов каталазы в клинической практике

препятствует большая молекулярная масса энзима, не позволяющая ферменту проникать через биологические барьеры и клеточные мембраны [53–55].

Помимо каталазы, существенную роль в детоксикации  $H_2O_2$  играют Se-зависимые глутатионпероксидазы (КФ 1.11.1.9; ГПО). Сродство ГПО к пероксиду водорода выше, чем у каталазы, поэтому они более эффективно функционируют при низких концентрациях прооксиданта [56, 57].

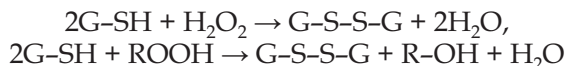
Впервые одна из глутатионпероксидаз, а именно цитозольная глутатионпероксидаза, была идентифицирована как селензависимый энзим еще в 1973 году [58]. Семейство ГПО состоит из семи представителей селенсодержащих глутатион-пероксидаз и одного Se-независимого энзима, кодируемых различными генами (табл. 5) [59].

Таблица 5

### Изоформы глутатионпероксидазы

Энзим	Ген	Локализация гена
Глутатионпероксидаза 1 (цитозольная – cGPx)	GPX1	Chr. 3 p21.3
Глутатионпероксидаза 2 (гастроинтестинальная – GIGPx)	GPX2	Chr. 14 q24.1
Глутатионпероксидаза 3 (плазматическая – pGPx)	GPX3	Chr. 5 q23
Глутатионпероксидаза 4 (фосфолипидгидропероксидная – PHGPx, GPx-4)	GPX4	Chr. 19 p13.3
Глутатионпероксидаза 5 (Se-независимая, eapGPx)	GPX5	Chr. 6 p21.32
Глутатионпероксидаза 6 (ольфакторная – oGPx)	GPX6	Chr. 6 p21
Глутатионпероксидаза 7 (GPx-7)	GPX7	Chr. 1 p32
Глутатионпероксидаза 8 (путативная – GPx8)	GPX8	Chr. 5 q11.2

Все изоформы глутатионпероксидазы эффективно восстанавливают пероксид водорода и алкилгидропероксиды за счет восстановительных эквивалентов глутатиона:



и представляют собой, за исключением GPx-4, -5 и GPx-8, гомотетрамеры, субъединицы которых функционируют независимо друг от друга. Мономерные изоформы GPx (GPx-4,-5 и GPx-8), локализованные в толще липидного бислоя мембран, по-видимому, специализированы для восстановления гидропероксидов липидов.

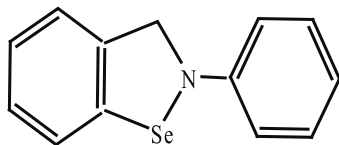
Биосинтез селенопротеинов, в частности глутатионпероксидаз, зависит от доступности селена, который включается в состав синтезируемых белков в виде селеноцистеина. В условиях дефицита селена наличие селен-цистеина в активном центре одних изоформ GPx изменяется в меньшей степени, чем это характерно для других форм энзима. Активность глутатионпероксидаз на фоне

селендефицитного рациона сохраняется в следующем порядке [60]:  $GIGPx > > PHGPx > pGPx = cGPx$ . То есть при низком уровне селенсодержащих соединений в продуктах питания и воде активность плазматической GPx, равно как и цитозольной, будет снижаться в первую очередь.

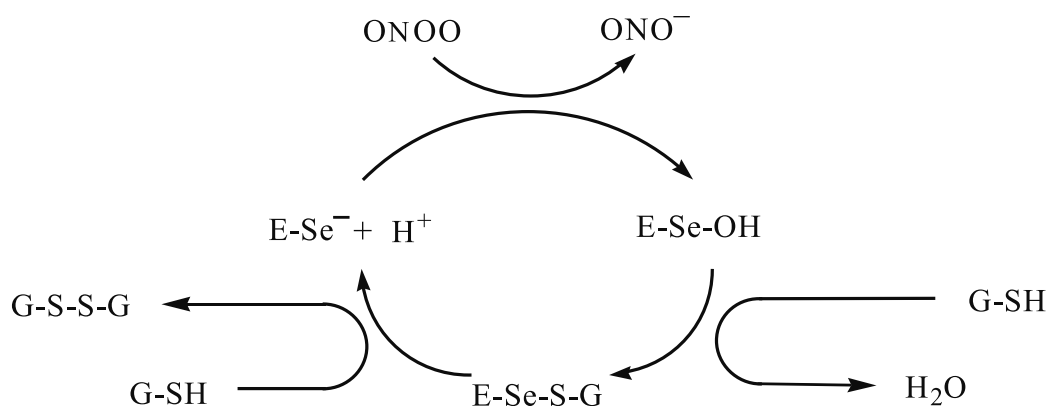
Изначально было сложно понять физиологическую роль внеклеточной (плазматической) глутатионпероксидазы, поскольку при уровне восстановленного глутатиона в плазме крови, равном 30 мкмоль, фермент может совершить только несколько каталитических циклов [61]. Положение вещей мало изменилось и после того как было установлено, что pGPx, наравне с восстановленным глутатионом, эффективно использует тиоредоксин и глутаредоксин в качестве источников восстановительных эквивалентов в процессе реализации ферментативной активности [62]. При этом следует учитывать, что pGPx в присутствии восстановленного глутатиона блокирует активность цикло- [63] и липоксигеназ [64, 65], поскольку для стимулирования и поддержания ферментативной активности данные оксигеназы требуют наличия определенного уровня гидроперекисей [66]. В обычных условиях цикло- и липоксигеназы переходят в активное состояние и начинают синтезировать провоспалительные простагландины и лейкотриены под влиянием «оксидативного взрыва» стимулированных фагоцитов, амплифицируя иницирующий провоспалительный сигнал. Исходя из этого, можно считать, что при ограниченном ресурсе восстановительных эквивалентов циркулирующая в крови глутатионпероксидаза (GPx3, pGPx) может эффективно предотвращать накопление гидроперекисей липидов только при появлении единичных стимулированных фагоцитов. Если же активированные фагоциты присутствуют в количестве, превышающем определенный порог, способность GPx3 демпфировать накопление гидропероксидов преодолевается и, следовательно, формируются предпосылки для реализации полномасштабной воспалительной реакции [60]. Следует отметить, что системная воспалительная реакция всегда сопровождается снижением уровня селена в крови и снижением активности GPx3 [67]. Последнее не только создает провоспалительный фон, но и формирует протромботическое состояние [68, 69]. Метаболический синдром также характеризуется пониженной активностью плазматической глутатионпероксидазы и провоспалительным фоном, что, по-видимому, создает определенную предрасположенность к атеросклеротическим изменениям стенки сосудов [70, 71]. В качестве ремарки отметим, что острый эндотелиит, по-видимому, не только значимая патогенетическая составляющая ишемически-реперфузионных повреждений органов и тканей, но и существенный фактор формирования клинических проявлений острых воспалительных заболеваний среднего уха, острой потери слуха, вестибулярных кризов, рожистых воспалений кожи и т. п.

В эксперименте установлено, что пероксинитрит очень эффективно восстанавливается (детоксицируется) различными селенсодержащими органическими соединениями [72–75]. Такие каталитические селен-органические гасители пероксинитрита выгодно отличаются от стехиометрических антиоксидантов в силу того, что не расходуются в процессе редокс-реакций и, следовательно, эффективны при относительно низких концентрациях. К числу подобных соединений относятся селеноцистеин, селенометионин, эбселен (см. ниже).

Известно, что эбселен способен мимикрировать глутатионпероксидазную активность [76]. Это позволило предположить [76], а в последующем и подтвердить наличие пероксинитритредуктазной активности у глутатионпероксидаз [72].



Таким образом, глутатионпероксидазы, помимо их способности восстанавливать пероксид водорода и гидропероксиды жирных кислот, обеспечивают защиту аэробных организмов и от чрезвычайно токсичного пероксинитрита путем восстановления его до нитрит-аниона (рис. 19) [77].

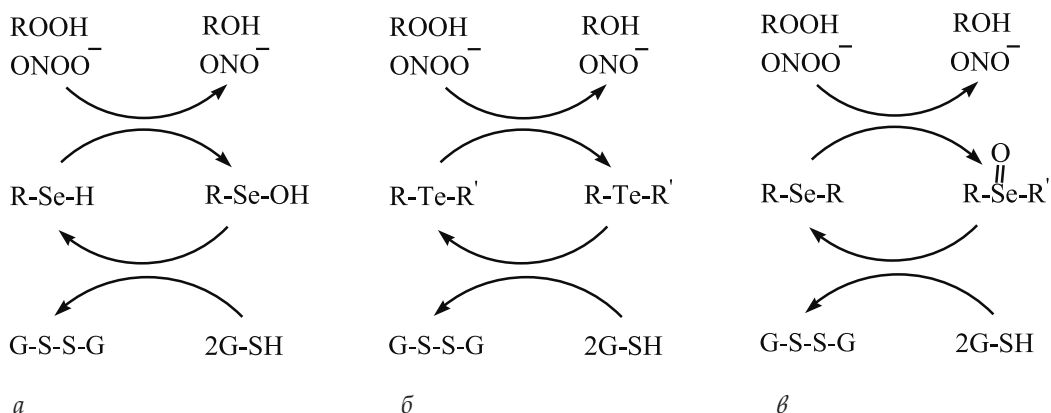


**Рис. 19.** Предполагаемый каталитический механизм восстановления пероксинитрита глутатионпероксидазами

Глутатионпероксидазы детоксицируют пероксинитрит так же эффективно, как и органические производные селена. Например, тетрамер GPx восстанавливает  $\text{ONO}_2^-$  со скоростью  $8 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  [78], а показатель кинетики данной реакции при участии эбселена —  $2 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  [72, 79]. В расчете на один атом селена динамика восстановительной трансформации одна и та же в обоих случаях и на два порядка превышает скорость взаимодействия данного прооксиданта с аскорбатом или метионином.

Способность мимикрировать пероксинитритредуктазную активность глутатионпероксидаз обнаружена и у органических соединений теллура [80].

Как показано на рис. 20, теллуриды и селениды, окисляемые при взаимодействии с прооксидантами, в последующем подвергаются глутатионзависимому восстановлению, и это рециклирование — обязательное условие поддержания их каталитической активности в биосредах. Один из селенсодержащих препаратов — эбселен — уже прошел клинические испытания и продемонстрировал лечебную эффективность при ишемических поражениях головного мозга [80–83]. Другие органические селенсодержащие соединения, например селенометионин, также оказались весьма активными детоксикаторами пероксинитрита [75]. О терапевтической эффективности низкомолекулярных селенсодержащих соединений, обладающих пероксинитритредуктазной активностью, при ишемически-реперфузионных повреждениях миокарда свидетельствует тот факт,



**Рис. 20.** Каталитический цикл восстановления гидроперекисей органических соединений и пероксинитрита: *а* – глутатионпероксидазой; *б* – теллурсодержащими органическими соединениями; *в* – селенопроизводными органических соединений

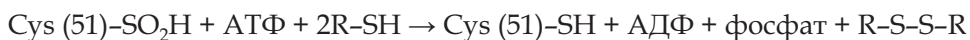
что в условиях эксперимента зона инфаркта под влиянием данных препаратов уменьшалась на 40% [84]. И даже неорганические соединения селена (селенит натрия), быстро увеличивая специфическую активность глутатионпероксидаз, снижают выраженность проявлений токсических эффектов пероксинитрита [85]. В наших экспериментах использование комплекса жирорастворимых антиоксидантов и восстанавливающего их тиола в качестве средства ранней патогенетической терапии острой лучевой болезни только на фоне селенита натрия обеспечивало выраженный терапевтический эффект [86]. Механизм стимулирующего действия селенитов на активность глутатионпероксидаз предположительно связан с Se-спиртами и органическими Se-кислотами.

В процессе изучения биохимических механизмов детоксикации пероксинитрита установлено, что и другие селенсодержащие белки, например селенопротеин Р плазмы крови человека и тиоредоксинредуктаза, также могут участвовать в восстановлении данного прооксиданта [87, 88]. Относительно селенопротеина Р следует иметь в виду и то, что данный белок, обладая гепаринсвязывающим сайтом, имеет потенциальную возможность фиксироваться на плазматических мембранах эндотелиоцитов, создавая протективный барьер против пероксинитрита [89, 90], и особенно эффективно такая линия защиты будет формироваться на фоне гепаринотерапии. Установлено, что селенопротеин Р плазмы крови млекопитающих – биологическое депо селена в организме и уровень указанного Se-протеина является индексом адекватности обеспеченности биологической системы данным микроэлементом [91].

Первый из представителей семейства пероксиредоксинов был открыт более двадцати лет назад [92]. Пероксиредоксины (Prx, КФ 1.11.1.15) экспрессируются, по-видимому, в организме всех аэробов [93] и у человека представлены шестью изоформами [94, 95]. Пероксиредоксины – цистеинзависимые негемовые пероксидазы, в виде гомодимеров эффективно элиминирующие гидропероксиды органических соединений, регулирующие уровень цитозольного  $\text{H}_2\text{O}_2$  и тем самым принимающие участие в сигнальной трансдукции [94, 96–98]:



Cys (51)-SH активного центра пероксиредоксинов в процессе каталитического восстановления  $H_2O_2$  и органических гидроперекисей окисляется до Cys (51)-SOH, который в условиях оксидативного стресса может окисляться до цистеинсульфиновой [Cys (51)-SO<sub>2</sub>H] или даже цистеинсульфоновой [Cys (51)-SO<sub>3</sub>H] кислоты. При этом энзим теряет ферментативную активность, в последнем случае необратимо. Цистеин-сульфиновая кислота [Cys (51)-SO<sub>2</sub>H] посредством ретроредукции под влиянием сульфиредоксина может конвертироваться в цистеин, что обеспечивает восстановление энзиматической активности пероксиредоксинов [99, 100]. Сульфиредоксин (КФ 1.8.98.2) представляет собой пероксиредоксинредуктазу, которая катализирует реакцию [101]:



Помимо пероксидов, пероксиредоксины способны восстанавливать пероксинитрит [102] и даже проявлять эффекты  $Ca^{2+}$ -независимой фосфолипазы А2 [103, 104]. Наличие качеств фосфолипазы А2, по-видимому, обеспечивает участие пероксиредоксинов не только в протекции, но и в репарации клеточных мембран посредством элиминации фосфолипидов, подвергшихся пероксидации. О физиологической значимости пероксиредоксинов свидетельствует тот факт, что эти энзимы весьма обильно представлены во всех клетках. Например, в эритроцитах пероксиредоксины – вторые после гемоглобина по общей массе белки [105].

Пероксид водорода, продуцируемый при оксидативном стрессе в пессимальном количестве представляет собой угрозу биологической системе, и в процессе биологической эволюции аэробные организмы «обзавелись» целым рядом энзимов, восстанавливающих данный прооксидант. В физиологических условиях  $H_2O_2$  активно генерируется рецептор-зависимыми НАДФН-оксидазами как вторичный мессенджер, участвующий в регуляции экспрессии различных генов, поэтому каталитическая активность восстанавливающих пероксид водорода ферментов строго контролируется посредством посттрансляционной модификации структуры данных энзимов. Например, каталаза активируется при фосфорилировании по Tyr<sup>231</sup> и Tyr<sup>386</sup>. Таким же образом стимулируется активность глутатионпероксидаз. А пероксиредоксины теряют специфическую активность при фосфорилировании по Tyr<sup>90</sup> и в случае окисления сульфгидрильной группы остатка аминокислоты цистеин в активном центре до цистеинсульфеновой кислоты. Фосфорилирование каталазы и глутатионпероксидаз обеспечивается гетеродимерной рецептор-независимой киназой c-Abl-Arg. В отличие от этого, фосфорилирование пероксиредоксинов осуществляется циклин В-зависимой киназой, а восстановление их окисленных форм – сульфиредоксином [106]. Значимо, что элиминация  $H_2O_2$  из биологической системы – самооптимизирующийся процесс: гетеродимеризация рецептор-независимой киназы c-Abl-Arg представляет собой редокс-контролируемый процесс. Самосборка каталитически активной тирозинкиназы c-Abl-Arg (и следовательно увеличение активности каталазы и глутатионпероксидаз) наблюдается только при сдвиге показателя окислительно-восстановительного потенциала биосреды в сторону положительных (окислительных) значений, т. е. при оксидативном стрессе [107].

Помимо супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидаз и пероксиредоксинов, в антиоксидантной защите организма принимают участие и другие



энзимы: тиоредоксины, гемоксигеназа, различные редуктазы, белки системы гомеостатирования ионов металлов переменной валентности и металлотионеины.

Тиоредоксины – дисульфид-содержащие редокс-активные небольшие (молекулярная масса 12 кДа, 105 остатков аминокислот) белковые молекулы, обнаруживаемые во всех аэробных организмах. Тиоредоксины выполняют функцию дисульфидоксидоредуктазы, восстанавливая НАДФН-зависимым путем SH-группы различных белков и тем самым поддерживая их специфическую активность. Окисленные формы тиоредоксинов ретроредукцируются в активное состояние тиоредоксинредуктазой [108, 109].

Гемоксигеназа (КФ 1.14.99.3) – скорость-лимитирующий фермент катаболической трансформации гема в биливердин, который далее конвертируется в билирубин биливердинредуктазой, что сопровождается выделением свободного железа ( $Fe^{2+}$ ) и оксида углерода (CO) [110]. К настоящему времени известны три изоформы энзима, обозначаемые как HO-1, HO-2 и HO-3 [111, 112]. HO-1 человека (молекулярная масса 32,8 кДа, 288 остатков аминокислот) представляет собой высокоиндуцибельную изоформу фермента. Экспрессия HO-1 стимулируется геминном, ультрафиолетом, проксидом водорода, тяжелыми металлами, гипоксией и оксидом азота [113–115]. HO-2 (молекулярная масса 36 кДа, 316 остатков аминокислот) – конститутивно экспрессируемый энзим, активность которого при физиологических условиях превышает активность HO-1 (но активность последней может возрастать на два порядка под влиянием индукторов) [116, 117]. HO-3 (молекулярная масса 33 кДа) обладает слабой каталитической активностью и относится к неиндуцибельным энзимам. Предполагается, что данный фермент участвует в регулировании гем-зависимых клеточных процессов [112] или вообще представляет собой не имеющий функций продукт псевдогена HO-2 [118].

Nrf2-зависимая стимуляция экспрессии гемоксигеназы-1 [119] сопровождается увеличением устойчивости организма к прооксидантам, в частности предупреждает ишемия/реперфузионные повреждения ткани печени [120]. Именно по этой причине гемоксигеназы включены в группу антиоксидантных энзимов, хотя механизмы антиоксидантной активности данных ферментов точно не установлены. Антиоксидантные эффекты, ассоциированные с HO-1, связывают с ко-индукцией экспрессии супероксиддисмутазы и каталазы [121], со свойствами билирубина как стехиометрической ловушки свободных радикалов, с увеличением экспрессии  $Fe^{2+}$ -аккумулирующего белка ферритина и подавлением активности НАДФН-оксидазы – основного источника  $O_2^{\cdot -}$  и  $H_2O_2$  в фагоцитах [122, 123]. Однако наиболее весомый вклад в формирование антиоксидантного профиля HO-1, по-видимому, вносит способность энзима транслоцироваться внутрь митохондрий и путем утилизации внутримитохондриального свободного гема предупреждать гиперпродукцию прооксидантов и апоптоз [124].

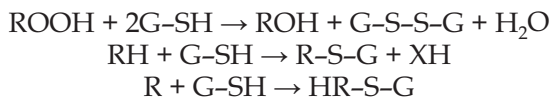
Биливердинредуктаза (КФ 1.3.1.24) – фермент, НАД(Ф)Н-зависимым путем конвертирующий биливердин в билирубин посредством восстановления двойной связи между первым и вторым пиррольными кольцами биливердина [125]. В процессе каталитического цикла биливердинредуктаза освобождает активный центр гемоксигеназы от биливердина, т. е. оба фермента функционируют в тесной кооперации [126]. Продукт восстановления биливердина – билирубин – представляет собой гаситель прооксидантов, превосходящий по эффек-

тивности  $\alpha$ -токоферол [127, 128]. В процессе восстановления свободных радикалов билирубин конвертируется в исходный продукт — биливердин. Таким образом, биливердинредуктаза, будучи движителем редокс-цикла биливердин/билирубин, обеспечивает элиминацию свободных радикалов из биологической системы. Об эффективности функционирования биливердин/билирубин редуктазного рециклирования в условиях оксидативного стресса свидетельствуют экспериментальные данные: билирубин при концентрации 10 нмоль способен защитить клетки от 100 мкмоль уровня  $H_2O_2$  [129].

Металлотионеины — семейство низкомолекулярных (молекулярная масса от 500 до 14 000 Да) белков, характеризующихся необычно высоким содержанием остатков аминокислоты цистеин (до 30% от общего количества аминокислотных остатков) [130, 131] и способностью связывать ионы двухвалентных металлов [132]. Например, связывая и выделяя ионы  $Zn^{2+}$  металлотионеины регулируют уровень данного катиона в биологических системах [133].

Сульфгидрильные группы металлотионеинов могут восстанавливать супероксидный, гидроксильный радикалы и другие прооксиданты [134]. При этом антиоксидантная активность металлотионеинов оказалась существенно выше, чем у цистеина, N-ацетилцистеина и глутатиона [135]. Окисление SH-групп остатков аминокислоты цистеин металлотионеинов в процессе восстановления прооксидантов сопровождается выделением связанных ранее данным полипептидом ионов цинка, обладающих способностью стимулировать экспрессию металлотионеинов [136, 137]. Этот самооптимизирующийся процесс — важный элемент антиоксидантной защиты организма.

Глутатион-S-трансферазы (G-S-T, КФ 2.5.1.18) — мультифункциональные ферменты метаболизма глутатиона, широко представлены как среди прокариот, так и среди эукариот. Семейство G-S-T в организме млекопитающих включает множество изоформ цитозольной, микросомальной и митохондриальной локализации, составляющих до 10% от общей массы цитозольных белков [138]. Субстратами энзима (наряду с гидроксильрованными производными липофильных ксенобиотиков) могут быть и продукты перекисидации, в том числе гидропероксиды жирных кислот [139]. Основная функция глутатион-S-трансфераз — элиминация из клеток липофильных субстанций и продуктов ПОЛ, осуществляется посредством их восстановления, нуклеофильного замещения или присоединения к субстрату молекулы глутатиона:



Глутатион-S-трансферазы эффективно восстанавливают гидропероксиды мононуклеотидов и полинуклеотидов, участвуя тем самым в репарации ДНК [140, 141]. Таким образом, G-S-T — важный компонент антиоксидантной защиты, обеспечивающий удаление (детоксикацию) интермедиатов неферментативного окисления различных клеточных биомолекул [142–145].

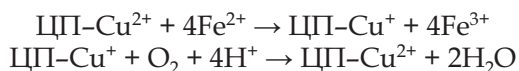
Альбумин — основной антиоксидант плазмы крови. Парциальное давление кислорода в артериальной крови составляет около 100 мм рт. ст. и быстро снижается в капиллярном русле до 4–20 мм рт. ст. [146]. Потенциально содержащее сосудистого русла подвержено воздействию активных форм кислорода

не в меньшей степени, чем структурные элементы внутри клеток. Однако уровень антиоксидантов в крови несравнимо ниже их содержания в цитозоле [147]. И это компенсируется тем, что в плазме крови основную антиоксидантную функцию выполняет альбумин [148–150].

Альбумин — белковая молекула массой 66 кДа, состоящая из 585 остатков аминокислот, хорошо растворимая в воде (нормальный уровень альбумина в плазме крови составляет 35–55 г/л) [151],  $t_{1/2}$  в сосудистом русле около трех недель. Антиоксидантная активность альбумина ассоциирована с его способностью:

- выполнять функции пероксидазы [148];
- секвестрировать катионы меди. Большая часть ионов Cu (II) в плазме связана церулоплазмином, но значительное количество ионов данного металла переменной валентности хелатируется N-терминальным трипептидом Asp-Ala-Lys альбумина [152, 153]. Секвестрация ионов Cu (II) альбумином исключает участие данного катиона в каталитической продукции гидроксильного радикала. И это весьма значимо, поскольку ионы меди почти на два порядка энергичнее ионов железа катализируют образование радикала HO• [154]. Более того, катионы Cu (II), хелатированные альбумином приобретают способность мимикрировать активность супероксиддисмутазы [155];
- хелатировать катионы Fe (III) [156];
- связывать длинноцепочечные жирные кислоты [151], по-видимому, защищая их от свободнорадикальных повреждений [157, 158];
- связывать с высокой степенью аффинности и транспортировать билирубин [159], сохраняющего при этом выраженную антиоксидантную активность [160], обеспечивающую защиту и  $\alpha$ -токоферола от воздействия пероксильных радикалов [161];
- выступать в качестве ловушки свободных радикалов, имея в составе полипептидной цепи остаток аминокислоты цистеин [162, 163] и шесть остатков метионина [149]. Окисленные формы остатков тиосодержащих аминокислот полипептидной цепи альбумина в последующем восстанавливаются низкомолекулярными нуклеофилами или соответствующими редуктазами [158, 164, 165];
- восстанавливать HOCl, предупреждая редокс-инактивацию основной биологической мишени данного прооксиданта —  $\alpha_1$ -антипротеазы [152].

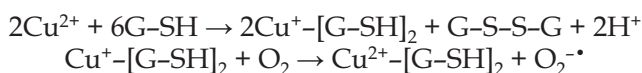
Исходя из общепринятых представлений о том, что ионы металлов переменной валентности способны эффективно катализировать продукцию прооксидантов, в частности гидроксильного радикала, очевидно, что для обеспечения адекватной антиоксидантной защиты организма чрезвычайно значимо удержание их уровня в биосредах в пределах безопасных концентраций и в окисленном состоянии. Одним из энзимов системы гомеостатирования ионов переходных металлов в биосредах организма млекопитающих является церулоплазмин (ЦП). Церулоплазмин — энзим плазмы крови гликопротеидной природы (КФ 1.16.3.1, молекулярная масса 151 кДа), прочно связывающий до шести атомов меди (Cu<sup>2+</sup>), что обеспечивает секвестрирование до 95% ионов данного металла из их общего количества в крови. Церулоплазмин (часто обозначается как ферроксидаза) с высокой скоростью катализирует окисление ионов двухвалентного железа:



и контролирует скорость экспорта ионов  $\text{Fe}^{3+}$  из внутриклеточных депо [166], что проявляется в виде антиоксидантных эффектов [167]. Антиоксидантные свойства церулоплазмина, очевидно, в определенной степени связаны с его способностью:

- мимикрировать активность супероксиддисмутазы [168, 169], каталазы и восстанавливать пероксильные и гидроксильные радикалы [170];
- ингибировать активность миелопероксидазы, блокируя тем самым продукцию гипогалоидов [171, 172];
- обеспечивать инкорпорирование ионов  $\text{Fe}^{3+}$  в ферритин [173].

По-видимому, при низких значениях pH (в зоне гнойного расплавления) в присутствии восстановителей ионы меди способны высвободиться из церулоплазмина и стимулировать свободнорадикальное окисление липидов посредством катализирования реакции Фентона [174, 175]. Кроме того, ионы меди при взаимодействии с восстановленным глутатионом образуют редокс-активные комплексы [176]:



В присутствии восстановленного глутатиона комплексы  $\text{Cu}^+[\text{G-SH}]_2$  превращаются в активный источник супероксидного анион-радикала [177]. Значимо и то, что комплексы  $\text{Cu}^+$ -глутатион способны энергично высвободить из ферритина ионы железа в редокс-активной форме [178].

Считается, что белки плазмы крови церулоплазмин и трансферрин совместно с тканевым ферритином формируют феррокинетическую систему, регулирующую уровень восстановленных ионов железа, определяя (в основном) суммарную антиокислительную активность крови в отношении  $\text{Fe}^{2+}$ -индуцированного ПОЛ [179].

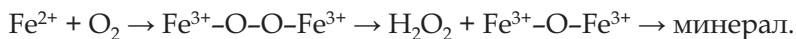
Трансферрин (ТФ) — гликопротеин плазмы крови, прочно, но обратимо связывающий катионы железа, обеспечивает транспорт данных ионов в организме млекопитающих [180]. Полипептидная цепь молекулы трансферрина состоит из 679 остатков аминокислот (молекулярная масса 80 кДа) и обладает двумя сайтами связывания  $\text{Fe}^{3+}$  [181, 182]. Показатель аффинности трансферрина к ионам трехвалентного железа экстремально высок ( $10^{23}$  М при pH 7,4) [183], но прогрессивно снижается при ацидификации среды. Синтезируется трансферрин, главным образом, в печени [184]. Уровень экспрессии данного  $\text{Fe}^{3+}$ -связывающего белка определяется содержанием железа в биосредах организма — увеличивается при железодефицитных состояниях и снижается при избытке данного металла переменной валентности [185]. Насыщенный  $\text{Fe}^{3+}$  трансферрин может проникать путем эндоцитоза только в те клетки, на цитоплазматической мембране которых экспрессируется специфический трансферриновый рецептор (TFR-1). Эндоцитоз инициируется после формирования лиганд-рецепторного комплекса TF-TFR-1 [186, 187].

После интернализации TF-TFR-1 в составе эндосомы (эндоцитозной везикулы), вакуолярная (мембраносвязанная)  $\text{H}^+$ -АТФ-аза ацидифицирует луминальную среду везикул до pH 5,5. В кислой среде лиганд-рецепторный комплекс претерпевает конформационные изменения, сопровождающиеся выделением ионов железа [188]. Важным этапом доставки ионов железа является

их восстановление под влиянием ферриредуктаз [189]. Далее эндосомальный транспортер двухвалентных металлов (DMT1) обеспечивает транслокацию ионов  $\text{Fe}^{2+}$  в цитозоль. После этого мембрана эндосомальной везикулы с находящимся на ней комплексом апотрансферрин-TFR-1 сливается с плазматической мембраной клетки. В условиях слегка щелочной внеклеточной среды лиганд-рецепторный комплекс легко диссоциирует. Таким образом обеспечивается доставка ионов железа в клетки и рециклирование трансферрина [190].

После поступления в клетку не все ионы железа немедленно утилизируются в синтетико-метаболических процессах. Часть железа депонируется в качестве резерва, главным образом в гепатоцитах, в составе железосвязывающего белкового комплекса — ферритина. Ферритин представляет собой мультимер 24 субъединиц двух типов (H — тяжелой и L — легкой), формирующих центральную полость, способную вмещать до 4500 атомов железа [191]. Ферритин — очень большая молекула (диаметр 12 нм, молекулярная масса 480 кДа, объем центральной полости  $256 \text{ нм}^3$ ) [192]. В структуре ферритина помимо центральной полости имеется 8 пар пор, обеспечивающих вход/выход субстрата, 12 сайтов минерализации/фиксации  $\text{Fe}^{3+}$  на стенке полости и каталитический феррооксидазный домен на каждой H-субъединице.

После попадания  $\text{Fe}^{3+}$  в ферритин ион железа не может миновать феррооксидазный центр, где претерпевая окислительную трансформацию конвертируется в диферроксо-прекурсор ( $\text{Fe}^{3+}\text{-O-Fe}^{3+}$ ) минеральной формы [193–195]:



Точный механизм мобилизации ионов железа из ферритина пока не установлен. Известно, что экспорт ионов железа из ферритина осуществляется через поры (локализованы в месте соединения трех субъединиц) после предварительного их восстановления и регидратации [196]. Данный феномен — низкий уровень насыщения ферритина железом — формируется, по-видимому, в результате восстановления супероксидным анион-радикалом в зоне воспаления  $\text{Fe}^{3+}$  до  $\text{Fe}^{2+}$  в составе ферритина, что и обуславливает мобилизацию железа из депо. Правомерность данного предположения подтверждается тем, что в условиях *in vivo* трансферрин в системе ксантин-ксантинооксидаза, генерирующей супероксид-радикал, энергично теряет  $\text{Fe}^{2+}$  [197]. Выделение ионов железа из ферритинового депо ингибируется супероксиддисмутазой, каталазой и другими антиоксидантами.

Таким образом, система гомеостатирования железа в организме млекопитающих, надежно функционирующая при физиологических условиях, может давать сбой при патологии, сопровождающейся закислением биосред, избыточной продукцией супероксидного анион-радикала.

## Литература

1. *Auten R. L., Davis J. M.* Oxygen toxicity and reactive oxygen species: the devil is in the details // *Pediatr. Res.* — 2009. — Vol. 66 (2). — P. 121–127.
2. *Miller G., Shulaev V., Mittler R.* Reactive oxygen signaling and abiotic stress // *Physiol. Plant.* — 2008. — Vol. 133 (3). — P. 481–489.

3. *Imlay J. A.* Pathways of oxidative damage // *Annu. Rev. Microbiol.* — 2003. — Vol. 57 (1). — P. 395–418.
4. *Siegel S. M., Gerschman R.* A study of the toxic effects of elevated oxygen tension on plants // *Physiol. Plant.* — 1959. — Vol. 12 (2). — P. 314–323.
5. *Chattopadhyay M. K., Tabor C. W., Tabor H.* Polyamines protect *Escherichia coli* cells from the toxic effect of oxygen // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2003. — Vol. 100 (5). — P. 2261–2265.
6. *Crapo J. D.* Morphologic changes in pulmonary oxygen toxicity // *Annu. Rev. Physiol.* — 1986. — Vol. 48. — P. 721–731.
7. *Mach W. J., Thimmesch A. R., Pierce T., Pierce J. D.* Consequences of hyperoxia and the toxicity of oxygen in the lung // *Nurs. Res. Prac.* — 2011. — doi. 10.1155/2011/260482.
8. *Sies H.* Oxidative stress: oxidants and antioxidants // *Exp. Physiol.* — 1997. — Vol. 82 (2). — P. 291–295.
9. *Franco A. A., Odom R. S., Rando T. A.* Regulation of antioxidant enzyme gene expression in response to oxidative stress and during differentiation of mouse skeletal muscle // *Free Radic. Biol. Med.* — 1999. — Vol. 27 (9–10). — P. 1122–1132.
10. *Johnson P.* Antioxidant enzyme expression in health and disease: effects of exercise and hypertension // *Comp. Biochem. Physiol. Part C Toxicol. Pharmacol.* — 2002. — Vol. 133 (4). — P. 493–305.
11. *Меньщикова Е. Б., Зенков Н. К.* Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процессов // *Успехи соврем. биол.* — 1993. — Vol. 113 (4). — P. 442–455.
12. *Bryan C. L., Campbell G. D., Lawrence R. A., Jenkinson S. G.* Diphosphoryl lipid A protects rats from lethal hyperoxia // *J. Lab. Clin. Med.* — 1992. — Vol. 120 (3). — P. 444–459.
13. *Fridovich I.* Superoxide dismutase — adaptation to a paramagnetic gas // *J. Biol. Chem.* — 1989. — Vol. 264 (14). — P. 7761–7764.
14. *Pylwas M., Puistola U., Kauppila S.* et al. Oxidative stress-induced antioxidant enzyme expression is an early phenomenon in ovarian carcinogenesis // *Eur. J. Cancer.* — 2010. — Vol. 46 (9). — P. 1661–1667.
15. *Black A. T., Gray J. P., Shakarjian M. P.* et al. Increased oxidative stress and antioxidant expression in mouse keratinocytes following exposure to paraquat // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* — 2008. — Vol. 231 (3). — P. 384–392.
16. *Плужников Н. Н., Софронов Г. А.* Фармакологическая коррекция состояния антиоксидантной системы организма // *Патофизиология экстремальных состояний: Избранные лекции и доклады* / Под ред. В. Ю. Шанина и В. И. Захарова. — СПб., 1993. — С. 108–113.
17. *Macmillan-Crob L. A., Cruthirds D. L.* Manganese superoxide dismutase in disease Free // *Radic. Res.* — 2001. — Vol. 34 (4). — P. 325–336.
18. *Elchuri A., Oberley T. D., Qi W.* et al. CuZnSOD deficiency leads to persistent and widespread oxidative damage and hepatocarcinogenesis later in life // *Oncogene.* — 2005. — Vol. 24 (3). — P. 367–380.
19. *Sentman M. L., Granstrom M., Jakobson H.* et al. Phenotypes of mice lacking extracellular superoxide dismutase and copper- and zinc-containing superoxide dismutase // *J. Biol. Chem.* — 2006. — Vol. 281 (11). — P. 6904–6909.
20. *Gongora M. C., Lob H. E., Landmesser U.* et al. Loss of extracellular superoxide dismutase leads to acute lung damage in the presence of ambient air: a potential mechanism underlying adult respiratory distress syndrome // *Am. J. Pathol.* — 2008. — Vol. 173 (4). — P. 915926.

21. Подберезкина Н. Б., Осинская Л. Ф. Биологическая роль супероксиддисмутазы // Укр. биохим. журн. — 1989. — Vol. 61 (2). — P. 14-27.
22. Ellerby L. M., Cabelli D. E., Graden J. A., Valentine J. S. Copper-zinc superoxide dismutase: why not pH-dependent? // J. Am. Chem. Soc. — 1996. — Vol. 118 (28). — P. 6556-6561.
23. Loffler G., Petrides P. E., Heinrich P. C. et al. Biochemie und Pathobiochemie. — Berlin: Springer-Lehrbuch. — 2006. — 123 p.
24. Pacher P., Beckman J. S., Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease // Physiol. Rev. — 2007. — Vol. 87 (1). — P. 315-424.
25. Biemond P., van Eijk H. G., Swaak A. J., Koster J. F. Iron mobilization from ferritin by superoxide derived from stimulated polymorphonuclear leukocytes. Possible mechanism in inflammation disease // J. Clin. Invest. — 1984. — Vol. 73 (6). — P. 1576-1579.
26. Samokyszyn V. M., Reif D. W., Miller D. M., Aust S. D. Effects of ceruloplasmin on superoxide-dependent iron release from ferritin and lipid peroxidation // Free Radic. Res. — 1991. — Vol. 12 (1). — P. 153-159.
27. Brieland J. K., Fantone J. C. Ferrous iron release from transferrin by human neutrophil-derived superoxide anion: effect of pH and iron saturation // Arch. Biochem. Biophys. — 1991. — Vol. 284 (1). — P. 78-83.
28. Brieland J. K., Clarke S. J., Karmiol S. et al. Transferrin: a potential source of iron for oxygen free radical-mediated endothelial cell injury // Arch. Biochem. Biophys. — 1992. — Vol. 294 (1). — P. 265-270.
29. Powers R. H., Stadnicka A., Kalbfleish J. H., Skibba J. L. Involvement of xanthine oxidase in oxidative stress and iron release during hyperthermic rat liver perfusion // Cancer Res. — 1992. — Vol. 52 (7). — P. 1699-1703.
30. Paul T. Effect of a prolonged superoxide flux on transferrin and ferritin // Arch. Biochem. Biophys. — 2000. — Vol. 382 (2). — P. 253-261.
31. McCord J. M. Free radicals and inflammation protection of synovial fluid by superoxide dismutase // Science. — 1984. — Vol. 185 (3). — P. 529-531.
32. Baker G. L., Corry R. J., Autor A. P. Oxygen free radical induced damage in kidneys subjected to warm ischemia and reperfusion. Protective effect of superoxide dismutase // Ann. Surg. — 1985. — Vol. 202 (5). — P. 628-641.
33. Churilova I. V., Zinov`ev E. V., Paramonov B. A. et al. Effect of Erysod (erythrocyte superoxide dismutase) on blood concentration of reactive oxygen species in patients with severe butns and burn shock // Bull Exp. Biol. Med. — 2002. — Vol. 134 (5). — P. 454-456.
34. Kelly K., Boux H., Petkau A., Schon A. On the safety of treatment with bovine superoxide dismutase: production of a humoral antibody response in rabbits with repeated treatment // Can. J. Physiol. Pharmacol. — 1982. — Vol. 60 (11). — P. 1374-1381.
35. Jadot G., Vaille A., Maldonado J. et al. Clinical pharmacokinetics and delivery of bovine superoxide dismutase Clin. Pharmacolinet. — 1995. — Vol. 28 (1). — P. 17-25.
36. Salvemini D., Riley D. P., Cuzzocrea S. SOD mimetic are coming of age // Nature Rev. Drug Discov. — 2002. — Vol. 1. — P. 367-374.
37. Salvemini D., Cuzzocrea S. Therapeutic potential of superoxide dismutase mimetics as therapeutic agents in critical care medicine // Crit. Care Med. — 2003. — Vol. 31 (1). — P. S29-S38.
38. Duann P., Datta P. K., Pan C. et al. Superoxide dismutase mimetic preserves the glomerular capillary permeability barrier to protein // J. Pharmacol. Exp. Ther. — 2006. — Vol. 316 (3). — P. 1249-1254.

39. *Kaipel M., Wagner A., Wassermann E.* et al. Increased biological half-life of aerosolized liposomal recombinant human Cu/Zn superoxide dismutase in pigs // *J. Aerosol. Med. Pulm. Drug Deliv.* – 2008. – Vol. 21 (3). – P. 281–290.
40. *Salvemini D., Wang Z. Q., Zweier J. L.* et al. Synzymes: potent nonpeptidic agents against superoxide-driven tissue injury // *Science.* – 1998. – Vol. 286 (5438). – P. 304–306.
41. *Gauuan P. J. F., Trova M. P., Gregor-Boros L.* et al. Superoxide dismutase mimetics: synthesis and structure-activity relationship study of MnTBAP analogues // *Bioorg. Med. Chem.* – 2002. – Vol. 10 (9). – P. 3013–3021.
42. *Cheung C. Y., McCartney S. J., Anseth K. S.* Synthesis of polymerizable superoxide dismutase mimetics to reduce reactive oxygen species damage in transplanted biomedical devices // *Adv. Func. Mater.* – 2008. – Vol. 18 (20). – P. 3119–3126.
43. *Vecchio G., Lanza V.* Synthesis of superoxide dismutase (SOD) enzyme mimetics. A bioinorganic laboratory experiment // *J. Chem. Educ.* – 2009. – Vol. 86 (12). – P. 1419.
44. *Murthy M. R., Reid T., Sicignano A.* Structure of beef liver catalase // *J. Mol. Biol.* – 1981. – Vol. 152 (2). – P. 465–499.
45. *Chelikani P., Fita I., Loewen P. C.* Diversity of structure and properties among catalases // *Cell. Mol Life Sci.* – 2004. – Vol. 61 (2). – P. 192–208.
46. *Nicholls P., Fita I., Loewen P. C.* Enzymology and structure of catalases // *Adv. Inorg. Chem.* – 2001. – Vol. 51. – P. 51–106.
47. *Aebi H.* Catalase *in vitro* Meth. Enzymol. – 1984. – Vol. 105. – P. 121–126.
48. *Kono Y., Fridovich I.* Superoxide radical inhibits catalase // *J. Biol. Chem.* – 1982. – Vol. 257 (10). – P. 5751–5754.
49. *Kirkman H. N., Galiano S., Gaetani G. F.* The function of catalase-bound NADPH // *J. Biol. Chem.* – 1987. – Vol. 262. – P. 660–666.
50. *Kirkman H. N., Rolfo M., Ferraris A. M.* et al. Mechanisms of protection of catalase by NADPH. Kinetics and stoichiometry // *J. Biol. Chem.* – 1999. – Vol. 274. – P. 13908–13914.
51. *Schonbaum G. R., Chance B.* Catalase *The Enzymes.* – Vol. 8. P. D. Boyer, ed. – 3<sup>rd</sup> ed. – N. Y.: Academic Press, 1976. – P. 363–408.
52. *Weisbart R. H., Balawin R., Huh B.* et al. Novel protein transfection of primary rat cortical neurons using an antibody that penetrate living cells // *J. Immunol.* – 2000. – Vol. 164 (11). – P. 6020–6026.
53. *Nishikawa M., Hashida M., Takakura Y.* Catalase delivery for inhibiting ROS-mediated tissue injury and tumor metastasis // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2009. – Vol. 61 (4). – P. 319–326.
54. *Siwale R. C., Yeboah G. K., Addo R.* et al. The effect of intracellular antioxidant delivery (catalase) on hydrogen peroxide and proinflammatory cytokine synthesis: a new therapeutic horizon // *J. Drug Target.* – 2009. – Vol. 17 (9). – P. 710–718.
55. *Undyala V., Terlecky S. R., Vander Heide R. S.* Targeted intracellular catalase delivery protects neonatal rat myocytes from hypoxia-reoxygenation and ischemia-reperfusion injury // *Cardiovasc. Pathol.* – 2011. – Vol. – 20 (5). – P. 272–280.
56. *Eaton J. W.* Catalases and peroxidases and glutathione and hydrogen peroxide: mysteries of the bestiary // *J. Lab. Clin. Med.* – 1991. – Vol. 118 (1). – P. 3–4.
57. *Akerboom T. P., Gartner M., Sies H.* Cellular hydroperoxide metabolism: the roles of glutathione peroxidases and of catalase in liver // *Bull. Eur. Physiopathol. Respir.* – 1981. – Vol. 17. – P. 221–227.
58. *Flohe L., Gunzler W. A., Schock H. H.* Glutathione peroxidase: selenoenzyme // *FEBS Lett.* – 1973. – Vol. 32 (1). – P. 132–134.



59. *Toppo S., Vanin S., Bosello V., Tosatto S. C.* Evolutionary and structural insights into the multifaceted glutathione peroxidases (Gpx) superfamily // *Antioxid. Redox Signal.* – 2008. – Vol. 10 (9). – P. 1501-1514.
60. *Brigelius-Flohe R.* Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidases // *Free Radic. Biol. Med.* – 1999. – Vol. 27 (9-10). – P. 951-965.
61. *Flohe L.* Glutathione peroxidase: fact and fiction CIBA foundation symposium.
65. *Oxygen free radicals and tissue damage.* (D. W. Fitzsimons, ed.). – Chichester: John Wiley and Sons, Ltd. – doi. 10.1002/9780470715413.ch7.
62. *Bjornstedt M., Xue J., Huang W.* et al. The thioredoxin and glutaredoxin systems are efficient electron donors to human plasma glutathione peroxidase // *J. Biol. Chem.* – 1994. – Vol. 269 (47). – P. 29382-29384.
63. *Smith W. L., Lands W. E. M.* Oxygenation of polyunsaturated fatty acids during prostaglandin biosynthesis by sheep vesicular gland // *Biochem.* – 1972. – Vol. 11 (17). – P. 3276-3285.
64. *Schnurr K., Belkner J., Ursini F.* et al. The selenoenzyme phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase controls the activity of the 15-lipoxygenase products // *J. Biol. Chem.* – 1996. – Vol. 271 (9). – P. 6288-6292.
65. *Haurand M., Flohe L.* Kinetic studies on arachidonate 5-lipoxygenase from rat basophilic leukemia cells // *Biol. Chem. Hoppe-Seyler.* – 1988. – Vol. 369 (2). – P. 133-142.
66. *Kulmacz R. J., Lands W. E. M.* Characteristics of prostaglandin H synthase Advances in prostaglandin, thromboxane, and leukotriene research B. Samuelsson, R. Paoletti, P. Ramwell (eds.). – N. Y.: Raven Press, 1983. – Vol. 11. – P. 93-95.
67. *Manzanares W., Biesto A., Galusso F.* et al. Serum selenium and glutathione peroxidase-3 activity: biomarkers of systemic inflammation in the critically ill? // *Intens. Care. Med.* – 2009. – Vol. 35 (5). – P. 8820889.
68. *Jin R. C., Mahoney C. E., Anderson L.* et al. Glutathione peroxidase-3 deficiency promotes platelet-dependent thrombosis *in vivo* // *Circulation.* – 2011. – Vol. 123 (18). – P. 1963-1973.
69. *Wolin M. S.* Plasma glutathione peroxidase activity is potentially a key regulator of vascular disease-associated thrombosis // *Circulation.* – 2011. – Vol. 123 (18). – P. 1923-1924.
70. *Ghayour-Mabarhan M., Taylor A., Lanham-New S.* et al. Serum selenium and glutathione peroxidase in patients with obesity and metabolic syndrome Pakistan // *J. Nutr.* – 2008. – Vol. 7 (1). – P. 112-117.
71. *Chew P., Yuen D. Y. C., Stefanovic W.* et al. Antiatherosclerotic and renoprotective effects of ebselen in the diabetic apolipoprotein E/GPx1-double knockout mouse Diabetes. – 2010. – Vol. 59 (12). – P. 3198-3207.
72. *Masumoto H., Sies H.* The reaction of ebselen with peroxynitrite // *Chem. Res. Toxicol.* – 1996. – Vol. 9 (1). – P. 262-267.
73. *Masumoto H., Sies H.* The reaction of 2-(methylseleno)benzanilide with peroxynitrite // *Chem. Res. Toxicol.* – 1996. – Vol. 9 (7). – P. 1057-1062.
74. *Roussyn I., Briviba K., Masumoto H., Sies H.* Selenium-containing compounds protect DNA from single-strand breaks caused by peroxynitrite // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1996. – Vol. 330 (1). – P. 216-218.
75. *Briviba K., Roussyn I., Sharov V., Sies H.* Attenuation of oxidation and nitration reactions of peroxynitrite by selenomethionine, selenocystine and ebselen // *Biochem. J.* – 1996. – Vol. 319 (1). – P. 13-15.

76. Sies H., Masumoto H. Ebselen as a glutathione peroxidase mimic and as a scavenger of peroxynitrite // *Adv. Pharmacol.* — 1997. — Vol. 38. — P. 229–246.
77. Sies H., Sharov V. S., Klotz L. O., Briviba K. Glutathione peroxidase protects against peroxynitrite-mediated oxidations // *J. Biol. Chem.* — 1997. — Vol. 272 (44). — P. 27812–27817.
78. Briviba K., Kissner R., Koppenol W. H., Sies H. Kinetic study of the reaction of glutathione peroxidase with peroxynitrite // *Chem. Res. Toxicol.* — 1998. — Vol. 11 (12). — P. 1398–1401.
79. Sies H., Arteel G. E. Interaction of peroxynitrite with selenoproteins and glutathione peroxidase mimics // *Free Radic. Biol. Med.* — 2000. — Vol. 28 (10). — P. 1451–1455.
80. Giles G. I., Fry F. H., Tasker K. M. Evaluation of sulfur, selenium and tellurium catalysts with antioxidant potential // *Org. Biomol. Chem.* — 2003. — Vol. 1 (23). — P. 4317–4322.
81. Saito I., Asano T., Sano K. et al. Neuroprotective effect of an antioxidant, ebselen, in patients with delayed neurological deficits after aneurismal subarachnoid hemorrhage // *Neurosurgery.* — 1998. — Vol. 42 (2). — P. 269–278.
82. Yamaguchi T., Sano K., Takakura K. et al. Ebselen in acute ischemic stroke: a placebo-controlled, double-blind clinical trial *Stroke.* — 1998. — Vol. 29 (1). — P. 12–17.
83. Ogawa A., Yoshimoto T., Kikuchi H. et al. Ebselen in acute middle artery occlusion: a placebo-controlled, double-blind clinical trial *Cerebrovasc. Dis.* — 1999. — Vol. 9 (2). — P. 112–118.
84. Szabo C. Multiple pathways of peroxynitrite cytotoxicity. — 2003. — Vol. 140–141. — P. 105–112.
85. Schieke S. M., Briviba K., Klotz L. O., Sies H. Activation pattern of mitogen-activated protein kinases elicited by peroxynitrite: attenuation by selenite supplementation // *FEBS Lett.* — 1999. — Vol. 448 (2–3). — P. 301–305.
86. Плужников Н. Н., Легеза В. И., Галеев И. Ш. и др. Патент РФ 2281092. Средство ранней патогенетической терапии острой лучевой болезни.
87. Arteel G. E., Mostert V., Oubrahim H. et al. Protection by selenoprotein P in human plasma against peroxynitrite-mediated oxidation and nitration // *Biol. Chem.* — 1998. — Vol. 349 (8–9). — P. 1201–1205.
88. Arteel G. E., Briviba K., Sies H. Function of thioradixin as a peroxynitrite reductase using selenocystine or ebselen // *Chem. Res. Toxicol.* — 1999. — Vol. 12 (3). — P. 264–269.
89. Arteel G. E., Franken S., Kappler J., Sies H. Binding of selenoprotein P to heparin: characterization with surface plasmon resonance // *Biol. Chem.* — 2000. — Vol. 381 (3). — P. 265–268.
90. Arteel G. E., Klotz L. O., Buchczyk D. P., Sies H. Selenoprotein P // *Methods Enzymol.* — 2002. — Vol. 347. — P. 121–125.
91. Burk R. F., Hill K. E. Selenoprotein P-expression, functions, and roles in mammals // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2009. — Vol. 1790 (11). — P. 1441–1447.
92. Kim K., Kim I. H., Lee K. Y. et al. The isolation and purification of a specific «protector» protein which inhibits enzyme inactivation by a thiol/Fe (III)/O<sub>2</sub> mixed-function oxidation system // *J. Biol. Chem.* — 1988. — Vol. 263 (10). — P. 4704–4711.
93. Soito L., Williamson C., Knutson S. T. et al. PREX: PeroxiRedoxin classification in dEX, a database of subfamily assignments across the diverse peroxiredoxin family // *Nucl. Acids Res.* — 2011. — Vol. 39 (1). — P. D332–D337.

94. Hofman B., Hecht H., Flohe L. Peroxiredoxins // *Biol. Chem.* – 2002. – Vol. 383 (3-4). – P. 347-364.
95. Seo M. S., Kang S. W., Kim K. et al. Identification of a new type of mammalian peroxiredoxin that forms an intramolecular disulfide as a reaction intermediate // *J. Biol. Chem.* – 2000. – Vol. 275 (27). – P. 20346-20354.
96. Wood Z. A., Schroder E., Harris J. R., Poole L. B. Structure, mechanism and regulation of peroxiredoxins // *Trends Biochem. Sci.* – 2003. – Vol. 28 (1). – P. 32-40.
97. Poole L. B. The catalytic mechanism of peroxiredoxins Flohe L., Harris J. R. (eds.). *Peroxiredoxin system.* – N. Y.: Springer, 2007. – P. 61-81.
98. Veal E. A., Day A. M., Morgan B. A. Hydrogen peroxide sensing and signaling // *Mol. Cell.* – 2007. – Vol. 26 (1). – P. 1-14.
99. Yang K. S., Kang S. W., Woo H. A. et al. Inactivation of human peroxiredoxin I during catalysis as the result of the oxidation of the catalytic site cysteine to cysteine-sulfinic acid // *J. Biol. Chem.* – 2002. – Vol. 277 (11). – P. 38019-38036.
100. Chevallet M., Wagner E., Luche S. et al. Regeneration of peroxiredoxins during recovery after oxidative stress: only some overoxidised peroxiredoxins can be reduced during recovery after oxidative stress // *J. Biol. Chem.* – 2003. – Vol. 278 (39). – P. 37146-37153.
101. Jonsson T. J., Lowther W. T. The peroxiredoxin repair proteins *Subcell.* // *Biochem.* – 2007. – Vol. 44 (5). – P. 115-141.
102. Bryk R., Griffin P., Nathan C. Peroxynitrite reductase activity of bacterial peroxiredoxins // *Nature.* – 2000. – Vol. 407 (6801). – P. 211-215.
103. Kim T. S., Sundaresh C. S., Feinstein S. I. et al. Identification of a human cDNA clone for lysosomal type Ca<sub>2+</sub>-independent phospholipase A2 and properties of the expressed protein // *J. Biol. Chem.* – 1997. – Vol. 272 (4). – P. 2542-2550.
104. Kang S. W., Baines I. C., Rhee S. G. Characterization of a mammalian peroxiredoxin that contains one conserved cysteine // *J. Biol. Chem.* – 1998. – Vol. 273 (11). – P. 6303-6311.
105. Neumann C. A., Krause D. S., Carman C. V. et al. Essential role for the peroxiredoxin Prx1 in erythrocyte antioxidant defence, and tumor suppression // *Nature.* – 2003. – Vol. 424 (6948). – P. 561-565.
106. Rhee S. G., Yang K. S., Kang S. W. et al. Controlled elimination of intracellular H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. – P. regulation of peroxiredoxin, catalase, and glutathione peroxidase via posttranslational modification // *Antioxid. Redox Signal.* – 2005. – Vol. 7 (5-6). – P. 619-626.
107. Cao C., Leng Y., Li C., Kufe D. Functional interactions between c-Abl and Arg protein-tyrosine kinases in the oxidative stress response // *J. Biol. Chem.* – 2003. – Vol. 278 (15). – P. 12961-12967.
108. Arner E. S., Olmgren A. Physiological functions of thioredoxin and thioredoxin reductase. *Eur. J. // Biochem.* – 2000. – Vol. 267 (20). – P. 6102-6109.
109. Smeets A., Evrard C., Landtmeters M. et al. Crystal structures of oxidized and reduced forms of human mitochondrial thioredoxin 2 // *Protein Sci.* – 2005. – Vol. 14 (10). – P. 2610-2621.
110. Wagener F. A. D. T. G., Volk H. D., Willis D. et al. Different faces of the heme-heme oxygenase system in inflammation // *Pharmacol. Rev.* – 2003. – Vol. 55 (3). – P. 551-571.
111. Maines M. D. Heme oxygenases: function, multiplicity, regulatory mechanisms, and clinical applications // *FASEB J.* – 1988. – Vol. 2 (1). – P. 2557-2568.

112. McCoubrey W. K. Jr., Huang T. J., Maines M. D. Isolation and characterization of a cDNA from the rat brain encodes hemoprotein heme oxygenase-3 // *Eur. J. Biochem.* — 1997. — Vol. 247 (2). — P. 725–732.
113. Keyse S. M., Tyrrell R. M. Heme oxygenase is the major 32-kDa stress protein induced in human skin fibroblasts by UVA radiation, hydrogen peroxide, and sodium arsenate // *Proc. Natl. Acad. Sci. Usa.* — 1989. — Vol. 86 (1). — P. 99–103.
114. Tyrrell R. M., Applegate L. A., Tromvoukis Y. The proximal promoter region of the human heme oxygenase gene contains elements involved in stimulation of transcriptional activity by a variety of agents including oxidants // *Carcinogenesis.* — 1993. — Vol. 14 (4). — P. 761–765.
115. Motterlini R., Foresti R., Bassi R. et al. Endothelial heme oxygenase-1 induction by hypoxia. Modulation by inducible nitric-oxide synthase and S-nitrosothiols // *J. Biol. Chem.* — 2000. — Vol. 275 (18). — P. 13613–13620.
116. McCoubrey W. K. Jr., Ewing J. F., Maines M. D. Human heme oxygenase-2: characterization and expression of a full-length cDNA and evidence suggesting that the two HO-2 transcripts may differ by choice of polyadenylation signal // *Arch. Biochem. Biophys.* — 1992. — Vol. 259 (1). — P. 13–20.
117. Trakshel G. M., Kutty R. K., Maines M. D. Purification and characterization of the major constitutive form of testicular heme oxygenase. The non inducible isoform // *J. Biol. Chem.* — 1986. — Vol. 261 (24). — P. 11131–11137.
118. Hayashi S., Omata Y., Sakamoto H. et al. Characterization of rat heme oxygenase-3 gene. Implication of processed pseudogenes derived from heme oxygenase-2 gene // *Gene.* — 2004. — Vol. 336 (2). — P. 241–250.
119. Boyle J. J., Johns M., Lo J. et al. Heme induces heme oxygenase 1 via Nrf2: role in the homeostatic macrophage response to intraplaque hemorrhage // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 2011. — Vol. 31 (11). — P. 2685–2691.
120. Amersi F., Buelow R., Kato H. et al. Upregulation of heme oxygenase-1 protects genetically fat Zucker rat livers from ischemia/reperfusion injury // *J. Clin. Invest.* — 1999. — Vol. 104 (11). — P. 1631–1639.
121. Turkseven S., Kruger A., Mingone C. et al. Antioxidant mechanism of heme oxygenase-1 involves an increase in superoxide dismutase and catalase in experimental diabetes // *Heart Circ. Physiol.* — 2005. — Vol. 289 (2). — P. H701–H707.
122. Taill C., El-Benna J., Lanone S. et al. Induction of heme oxygenase-1 inhibits NAD (P)H oxidase activity by down-regulating cytochrome b558 expression via the reduction of heme availability // *J. Biol. Chem.* — 2004. — Vol. 279 (27). — P. 28681–28688.
123. Erdmann K., Cheung B. W. Y., Immenschuh S., Schroder H. Heme oxygenase-1 is a novel target and antioxidant mediator of S-adenosylmethionine // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2008. — Vol. 368 (4). — P. 937–941.
124. Bindu S., Pal C., Dey S. et al. Translocation of heme oxygenase-1 to mitochondria is a novel cytoprotective mechanism against nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced mitochondrial oxidative stress, apoptosis, and gastric mucosal injury // *J. Biol. Chem.* — 2011. — Vol. 286 (45). — P. 38387–39402.
125. Rigney E., Mantle T. J. The reaction mechanism of bovine kidney biliverdin reductase // *Biochim. Biophys. Acta.* — 1988. — Vol. 957 (2). — P. 237–242.
126. Ahmad Z., Salim M., Maines M. D. Human biliverdin reductase is a leucine zipper-like DNA-binding protein and functions in transcriptional activation of heme oxygenase-1 by oxidative stress // *J. Biol. Chem.* — 2002. — Vol. 277 (11). — P. 9226–9232.

127. *Stocker R., Glaser A. N., Ames B. N.* Antioxidant activity of albumin-bound bilirubin // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1987. — Vol. 84 (16). — P. 5918–5922.
128. *Stocher R., Yamamoto Y., McDonagh A. F.* et al. Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance // *Science.* — 1987. — Vol. 235 (4792). — P. 1043–1046.
129. *Dore S., Takahashi M., Ferris C. D.* et al. Bilirubin, formed by activation of heme oxygenase-2, protects neurons against oxidative stress injury // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1999. — Vol. 96 (5). — P. 2445–2450.
130. *Atrian S., Blindauer C. A., Lillig C. H.* et al. Metallothioneins and related chelators. V. Metal ions in life sciences eds.: A. Sigel, H. Sigel, R. K. O. Sigel. — Cambridge: RSC Publishing, 2009. — 514 p.
131. *Thirumoorthy N., Kumar M. K. T., Sundar A. S.* et al. Metallothionein: an overview // *World J. Gastroenterol.* — 2007. — Vol. 13 (7). — P. 993–996.
132. *Blinauer C. A., Leszczyszyn O. I.* Metallothioneins: unparalleled diversity in structures and functions for metal ion homeostasis and more // *Nat. Prod. Rep.* — 2010. — Vol. 27 (5). — P. 720–741.
133. *Jin R., Chow V. T., Tan P. H.* et al. Metallothionein 2A expression is associated with cell proliferation in breast cancer // *Carcinogen.* — 2002. — Vol. 23 (1). — P. 81–86.
134. *Kumari M. V., Hiramatsu M., Eladi M.* Free radical scavenging action of metallothionein isoforms I and II Free // *Radic. Res.* — 1998. — Vol. 29 (2). — P. 93–101.
135. *Hussain S., Slikker W. Jr., Ali S. F.* Role of metallothionein and other antioxidants in scavenging superoxide radicals and their possible role in neuroprotection // *Neurochem. Int.* — 1996. — Vol. 29 (2). — P. 145–152.
136. *Fliss H., Menard M.* Oxidant-induced mobilization of zinc from metallothionein Note // *Arch. Biochem. Biophys.* — 1992. — Vol. 293 (1). — P. 195–199.
137. *Andrews G. K.* Regulation of metallothionein gene expression by oxidative stress and metal ions // *Biochem. Pharmacol.* — 2000. — Vol. 59 (1). — P. 95–104.
138. *Boyer T. D.* The glutathione S-transferases: an update. — 1989. — Vol. 9 (3). — P. 486–496.
139. *Leaver M. J., George S. G.* A piscine glutathione S-transferase which efficiently conjugates the end-products of lipid peroxidation // *Marine Environment Res.* — 1998. — Vol. 46 (1–5). — P. 71–74.
140. *Tan K. H., Meyer D. J., Gilles N., Ketterer B.* Detoxification of DNA hydroperoxide by glutathione transferases and the purification and characterization of glutathione transferases of the rat liver nucleus // *Biochem. J.* — 1988. — Vol. 254 (3). — P. 841–845.
141. *Ketterer B., Meyer D. J.* Glutathione transferases: a possible role in the detoxication and repair of DNA and lipid hydroperoxides // *Mutat. Res.* — 1989. — Vol. 214 (1). — P. 33–40.
142. *Колесниченко Л. С., Кулинский В. И.* Глутатионтрансфераза // *Успехи соврем. биол.* — 1989. — Vol. 107 (2). — P. 179–194.
143. *Соколовский В. В.* Тиоловые антиоксиданты в молекулярных механизмах неспецифической реакции организма на экстремальные воздействия // *Вопр. мед. химии.* — 1988. — Vol. 34 (6). — С. 2–11.
144. *Sharma R., Yang Y., Sharma A.* et al. Antioxidant role of glutathione S-transferases: protection against oxidant toxicity and regulation of stress-mediated apoptosis // *Antioxid. Redox Signal.* — 2004. — Vol. 6 (2). — P. 289–300.
145. *Balogh L. B., Atkins W. M.* Interactions of glutathione transferases with 4-hydroxynonenal // *Drug Metab. Rev.* — 2011. — Vol. 43 (2). — P. 165–178.

146. *Brahimi-Horn M. C., Pouysseque J.* Oxygen a source of life and stress // *FEBS Lett.* – 2007. – Vol. 581 (19). – P. 3582–3591.
147. *Musante L., Bruschi M., Candiano G. et al.* Characterization of oxidation end product of plasma albumin «*in vitro*» // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2006. – Vol. 349 (2). – P. 668–673.
148. *Cha M. K., Kim I. H.* Glutathione-linked thiol peroxidase activity of human serum albumin: a possible antioxidant role of serum albumin in blood plasma // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1996. – Vol. 222 (2). – P. 619–625.
149. *Bourdon E., Loreau N., Lagrost L., Blacke D.* Differential effects of cysteine and methionine residues in the antioxidant activity of human serum albumin Free // *Radic. Res.* – 2005. – Vol. 39 (1). – P. 15–20.
150. *Lee H., Cha M. K., Kim I. H.* Activation of thiol-dependent antioxidant activity of human serum albumin by alkaline pH is due to the B-like conformational change // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2000. – Vol. 380 (2). – P. 309–318.
151. *Peters T. J.* All about albumin: biochemistry, genetics, and medical applications San Diego: Academic Press, 1996. – 432 p.
152. *Halliwell B.* Albumin – an important extracellular antioxidant? // *Biochem. Pharmacol.* – 1988. – Vol. 37 (4). – P. 569–571.
153. *Laussac J. P., Sarkar B.* Characterization of the copper (II)- and nickel (II)-transport site of human serum albumin. Studies of copper (II) and nickel (II) binding to peptide 1–24 of human serum albumin by  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMP spectroscopy // *Biochemistry.* – 1984. – Vol. 23 (12). – P. 2832–2838.
154. *Chevin M., Jiang Y., Har-El R. et al.* Copper and iron are mobilized following myocardial ischemia: possible predictive criteria for tissue injury // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1993. – Vol. 90 (3). – P. 1102–1106.
155. *Bar-Or D., Rael L. T., Lau E. P. et al.* An analog of the human albumin N-terminus (Asp-Ala-His-Lys) prevents formation of copper-induced reactive oxygen species // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2001. – Vol. 284 (3). – P. 856–862.
156. *Walter P. B., Fung E. B., Killilea D. W. et al.* Oxidative stress and inflammation in iron-overloaded patients with beta-thalassemia or sickle cell disease // *Br. J. Haematol.* – 2006. – Vol. 135 (2). – P. 254–263.
157. *Rubbo H., Parthasarathy S., Barnes S. et al.* Nitric oxide inhibition of lipoxygenase-dependent liposome and low-density lipoprotein oxidation: termination of radical chain propagation reactions and formation of nitrogen-containing oxidized lipid derivatives // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1995. – Vol. 324 (1). – P. 15–25.
158. *Quinlan G. J., Martin G. S., Evans T. W.* Albumin: biochemical properties and therapeutic potential *Hepatobiology.* – 2005. – Vol. 41 (6). – P. 1211–1219.
159. *Jacobson C.* Lysine residue 240 of human serum albumin is involved I high-affinity binding of bilirubin // *Biochem. J.* – 1978. – Vol. 171 (2). – P. 453–459.
160. *Neuzil J., Stocker R.* Bilirubin attenuates radical-mediated damage to serum albumin // *FEBS Lett.* – 1993. – Vol. 331 (3). – P. 281–284.
161. *Neuzil J., Stocker R.* Free and albumin-bound bilirubin are efficient co-antioxidants for alpha-tocopherol, inhibiting plasma and low density lipoprotein lipid peroxidation // *J. Biol. Chem.* – 1994. – Vol. 269 (24). – P. 16712–16719.
162. *Oettl K., Stauber R. E.* Physiological and pathological changes in the redox state of human serum albumin critically influence its binding properties // *Br. J. Pharmacol.* – 2007. – Vol. 151 (5). – P. 580–590.

163. Gutteridge J. M. Antioxidant properties of the proteins caeruloplasmin, albumin and transferrin. A study of their activity in serum and synovial fluid from patients with rheumatoid arthritis // *Biochim. Biophys. Acta.* — 1986. — Vol. 869 (2). — P. 119-127.
164. Levine R. L., Mosoni L., Berlett B. S., Stadtman E. R. Methionine residues as endogenous antioxidants in proteins // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1996. — Vol. 93 (26). — P. 15036-15040.
165. Levine R. L., Berlett B. S., Moskovitz J. et al. Methionine residues may protect proteins from critical oxidative damage // *Mech. Ageing Dev.* — 1999. — Vol. 107 (3). — P. 323-332.
166. Hellman N. E., Gillton J. D. Ceruloplasmin metabolism and function // *Annu Rev. Nutr.* — 2002. — Vol. 22 (1). — P. 439-417.
167. Kanner J., Sofer F., Harel S., Doll L. Antioxidant activity of ceruloplasmin in muscle membrane *in situ* lipid peroxidation // *J. Agric. Food Chem.* — 1988. — Vol. 36 (3). — P. 415-417.
168. Bannister J. V., Bannister W. H., Hill H. A. et al. Does caeruloplasmin dismutate superoxide? No // *FEBS Lett.* — 1980. — Vol. 118 (1). — P. 127-129.
169. Samokyszyn V. M., Miller D. M., Reif D. W., Aust S. D. Inhibition of superoxide and ferritin-dependent lipid peroxidation by ceruloplasmin // *J. Biol. Chem.* — 1989. — Vol. 264 (1). — P. 21-26.
170. Atanasiu R. L., Stea D., Mateescu M. A. et al. direct evidence of caeruloplasmin antioxidant properties *Mol. Cell // Biochem.* — 1998. — Vol. 189 (1-2). — P. 127-135.
171. Segelmark M., Persson B., Hellmark T., Wieslander J. Binding and inhibition of myeloperoxidase (MPO): a major function of ceruloplasmin? // *Clin. Exp. Immunol.* — 1997. — Vol. 108 (1). — P. 167-174.
172. Sokolov A. V., Ageeva K. V., Pulina M. O. et al. Ceruloplasmin and myeloperoxidase in complex affect the enzymatic properties of each other *Free // Radic. Res.* — 2008. — Vol. 42 (11-12). — P. 989-998.
173. Van Eden M. E., Aust S. D. Intact human ceruloplasmin is required for the incorporation of iron into human ferritin // *Arch. Biochem. Biophys.* — 2000. — Vol. 381 (1). — P. 119-126.
174. Ehrenwald E., Chisolm G. M., Fox P. L. Intact human ceruloplasmin oxidatively modifies low density lipoprotein // *J. Clin. Invest.* — 1994. — Vol. 93 (4). — P. 1493-1501.
175. Burkitt M. J. A critical overview of the chemistry of copper-dependent low density lipoprotein oxidation: roles of lipid hydroperoxides, alpha-tocopherol, thiols, and ceruloplasmin // *Arch. Biochem. Biophys.* — 2001. — Vol. 394 (1). — P. 117-136.
176. Speisky H., Lopez-Alarcon C., Olea-Azor C. et al. Role of superoxide anions in the redox changes affecting the physiologically occurring Cu (I)-glutathione complex // *Bioinorg. Chem. Appl.* — 2011. — doi. 10.1155/2011/674149.
177. Speisky H., Gomez M., Burqos-Bravo F. et al. Generation of superoxide radicals by copper-glutathione complexes: redox-consequences associated with their interaction with reduced glutathione // *Bioorg. Med. Chem.* — 2009. — Vol. 17 (5). — P. 1803-1810.
178. Aliaqa M. E., Carrasco-Pozo G., Lopez-Alarcon C. et al. Superoxide-dependent reduction of free Fe (3+) and release of Fe (2+) from ferritin by the physiologically-occurring Cu (I)-glutathione complex // *Bioorg. Med. Chem.* — 2011. — Vol. 19 (1). — P. 534-541.
179. Владимиров Ю. А., Азизова О. А., Деев А. И. и др. Свободные радикалы в живых системах. Итоги науки и техники. Сер. Биофизика. — М.: ВИНТИ, 1991. — 250 с.

180. Crichton R. R., Charlotheaux-Wanters M. Iron transport and storage // Eur. J. Biochem. – 1987. – Vol. 164 (3). – P. 485–506.
181. Baker H. M., Anderson B. F., Baker E. N. Dealing with iron: common structural principles in proteins that transport iron and heme // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2003. – Vol. 100 (7). – P. 3579–3583.
182. Cheng Y., Zak O., Aisen P. et al. Structure of human transferrin receptor-transferrin complex // Cell. – 2004. – Vol. 116 (4). – P. 565–576.
183. Aisen P., Leibman A., Zweier J. Stoichiometric and site characteristics for binding of iron to human transferrin // J. Biol. Chem. – 1978. – Vol. 253 (6). – P. 1930–1937.
184. Arosio P., Cairo G., Levi S. The molecular biology of iron-binding proteins de Sousa M., Brook J. H. (eds.) Iron in immunity, cancer and inflammation. – N. Y: John Wiley and Sons LTD, 1989. – P. 55–79.
185. Macedo M. F., de Sousa M. Transferrin and transferrin receptor: of magic bullets and other concerns // Inflamm. Allergy Drug Targets. – 2008. – Vol. 7 (1). – P. 41–52.
186. Aisen P. Transferrin receptor 1 // Int. J. Biochem Cell. Biol. – 2004. – Vol. 36 (11). – P. 2137–2143.
187. Han J., Seaman W. E., Wang W. et al. Iron uptake mediated by binding of H-ferritin to the TIM-2 receptor in mouse cells // PLoS One. – 2011. – Vol. 6 (8). – P. e2380.
188. Sipe D. M., Mupphy R. F. Binding to cellular receptors results in increased iron release from transferrin in mildly acidic pH // J. Biol. Hem. – 1991. – Vol. 266 (13). – P. 8002–8007.
189. Ohgami R. S., Campagna D. R., Antichos B. et al. nm1054: a spontaneous, recessive, hypochromatic. Microcytic anemia mutation in the mouse // Blood. – 2005. – Vol. 106 (10). – P. 3625–3631.
190. Nodadur S. S., Srirama K., Mudipalli A. Iron transport and homeostasis mechanisms: their role in health and disease // Indian J. Med. Res. – 2008. – Vol. 128 (4). – P. 533–544.
191. Koorts A. M., Viljoen M. Ferritin and ferritin isoforms. I: Structure-function relationships, synthesis, degradation and secretion // Arch. Physiol. Biochem. – 2007. – Vol. 113 (1). – P. 30–54.
192. Theil E. C. Ferritin: at the crossroads of iron and oxygen metabolism // J. Nutr. – 2003. – Vol. 133 (5). – P. S1549–S1553.
193. Treffry A., Zhao Z., Quail M. et al. Iron (II) oxidation by H chain ferritin: evidence from site-directed mutagenesis that a transient blue species is formed at the dinuclear iron center // Biochem. – 1995. – Vol. 34 (46). – P. 15204–15213.
194. Hwang J., Krebs C., Huynh B. H. et al. A short Fe-Fe distance in proxodiferric ferritin. – P. control of Fe substrate versus cofactor decay? // Science. – 2000. – Vol. 287 (5450). – P. 122–125.
195. Chasteen N. D., Harrison P. M. Mineralization in ferritin: an efficient means of iron storage // J. Struct. Biol. – 1999. – Vol. 126 (3). – P. 182–194.
196. Theil E. C. Ferritin // Messerschmidt A., Huber R., Poulos T., Wieghardt K. (eds.) Handbook of metalloproteins. – Chichester: John Wiley and Sons, 2000. – P. 771–781.
197. Mazur A., Green S., Saha A., Carleton A. Mechanism of release of ferritin iron *in vivo* by xanthine oxidase // J. Clin. Invest. – 1958. – Vol. 37 (12). – P. 1809–1817.



### 1.4.2. Неферментативные антиоксиданты

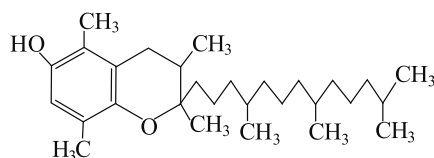
Анализ публикаций, касающихся использования различных биоантиоксидантов при свободнорадикальной патологии, убедительно свидетельствует о том, что наиболее эффективно комплексное назначение витаминов-антиоксидантов (ретинола,  $\alpha$ -токоферола, аскорбиновой кислоты и др.) [1–5]. Синергизм терапевтического действия жиро- и водорастворимых антиоксидантов в условиях их сочетанного применения [5, 6] не представляется неожиданным, поскольку процессы неферментативного окисления осуществляются как в неполярных, так и в полярных средах, т. е. не только в биомембранах, но и в водной среде клеток. Кроме того, для обеспечения рециклирования окисленных форм жирорастворимых антиоксидантов в восстановленные необходимо присутствие водорастворимых гасителей свободных радикалов [7, 8]. Сложнее объяснить описанные в ряде работ такие эффекты, как:

- потенцирование антиоксидантного действия жирорастворимых витаминов-антиоксидантов при их совместном применении [9, 10];
- усиление антирадикальной активности жирорастворимых антиоксидантов в присутствии холестерина [11];
- высокая эффективность сочетанного применения селенита натрия и  $\alpha$ -токоферола [12–15];
- синергизм антиоксидантных эффектов селенита натрия и натрия тиосульфата (данные собственных исследований).

Приступая к рассмотрению вопроса биохимических механизмов гашения свободных радикалов в липидном бислое, следует подчеркнуть, что именно биомембраны относятся к наиболее восприимчивым к воздействию прооксидантов структурам клеток. Самым подходящим элементом в них для инициирования, поддержания реакций свободнорадикального окисления выступают остатки полиеновых жирных кислот фосфолипидов – линолевой, линоленовой, арахидоновой (соответственно имеющих 2, 3 и 4 двойных связи). Легче всего прооксиданты получают электрон от  $\text{CH}_2$ -групп, находящихся между двумя двойными связями, иницилируя таким образом цепи неферментативного окисления.

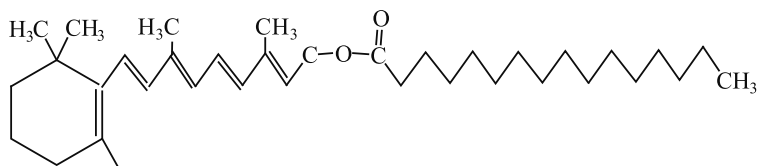
Сама по себе модификация структуры фосфолипидов биомембран мало критична для клетки (при условии, что сохраняется стабильность бислоя в жидкокристаллическом состоянии [16]). Основная масса биологических последствий стимуляции процессов перекисного окисления липидов обусловлена вовлечением в реакции свободнорадикальной модификации критически важных биомакромолекул – ДНК, РНК, белковых образований – рецепторов, ферментов, ионных каналов и т. п.

Для подавления свободнорадикальных реакций непосредственно в структуре липидного бислоя клеточных мембран находятся гидрофобные антиоксиданты – альфа-токоферол и ретинол [17]. Молекула  $\alpha$ -токоферола (витамина Е) состоит из бензольного ядра с гидроксильной группой (способной отдавать электрон, выполняющая антиоксидантную функцию [18, 19]) и боковой фитильной цепи, осуществляющей гидрофобное взаимодействие антиоксиданта с мембранными структурами:



Витамин Е способен гасить активные формы кислорода ( $^1\text{O}_2$  и  $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) [20, 21], взаимодействовать с гидроксильным радикалом [22] и восстанавливать липидные радикалы структуры  $\text{R}^{\cdot}$  и  $\text{ROO}^{\cdot}$  [23–25]. Наиболее активно в липидном бислое  $\alpha$ -токоферол восстанавливает пероксильные радикалы [26, 27]. Образующийся при гашении прооксидантов радикал  $\alpha$ -токоферола относительно мало активен в силу делокализации неспаренного электрона по ароматическому кольцу [28, 29]. Считается, и тому есть экспериментальное подтверждение, что в присутствии водорастворимых антиоксидантов, например восстановленной формы аскорбиновой кислоты, он способен восстанавливать свой антиоксидантный потенциал посредством прямого рециклирования [30–32].

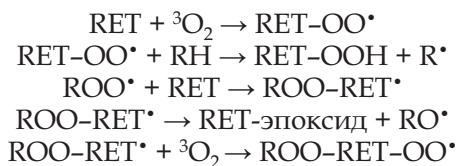
Ретинол (витамин А) в комплексе с  $\alpha$ -токоферолом также участвует в защите биологических мембран от повреждения их прооксидантами [33–38]. Эффекты ретинола усиливаются в присутствии селенита натрия [39]. Витамин А считается эффективным средством повышения неспецифической резистентности организма, стимуляции иммунореактивности [40–43]. Ретинол в мембранах клеточных элементов тканей находится в виде эфиров пальмитиновой и других жирных кислот, в такой форме он накапливается в ткани печени [44, 45]:



При рассмотрении молекулярных механизмов антиоксидантной защиты структур биомембран следует учитывать, что:

- гидрофобная часть липидного бислоя представляет собой диэлектрик, а потому является трудно преодолимым барьером для небольших (одноатомных) анионов, катионов и электронов [16, 46];
- на 1000 фосфолипидных молекул – потенциальных мишеней активных форм и радикалов кислорода, обычно приходится только 2–3 молекулы антиоксиданта, главным образом  $\alpha$ -токоферола [16, 47], или даже на порядок меньше [48];
- молекулы  $\alpha$ -токоферола в липидном бислое склонны спонтанно группироваться в кластеры [49] и формировать комплексы со свободными жирными кислотами, в первую очередь с полиненасыщенными, аффинность к которым на четыре порядка превышает сродство антиоксиданта к насыщенным жирным кислотам [50];
- при комбинированном применении ретинола и  $\alpha$ -токоферола степень синергизма линейно зависит от молярного соотношения «витамин А/витамин Е» в диапазоне 0,1–1,0 с резким его снижением при соотношении, равном 2,0 [10];
- восстановление окисленных форм липофильных антиоксидантов осуществляется при их прямом взаимодействии с восстановленными формами водорастворимых антиоксидантов, т. е. подавление свободнорадикального окисления липидов должно рассматриваться и оцениваться только как элемент неферментативной антиоксидантной защиты живой системы, функционирующей в тесной взаимосвязи с антиоксидантными энзимами [7].

- В связи с вышеизложенным возникает ряд вопросов, основные среди которых:
- каким образом в процессе гашения липидных радикалов биомембран обеспечивается доставка электрона в среде диэлектрика на достаточно большие расстояния (на одну молекулу антиоксиданта приходится сотни и даже тысячи молекул фосфолипидов)?
  - почему ретинол (RET) при нахождении в липидной среде, легко подвергаясь окислению в силу наличия полиеновой цепи [51,52] и будучи способным поддерживать реакции ПОЛ:



в присутствии  $\alpha$ -токоферола (при соблюдении определенного диапазона пропорций) теряет прооксидантную активность и усиливает антиоксидантные свойства витамина Е [53]?

- почему селенит натрия, будучи окислителем по химической природе [54], способствует увеличению антиоксидантной активности  $\alpha$ -токоферола [55–57]?

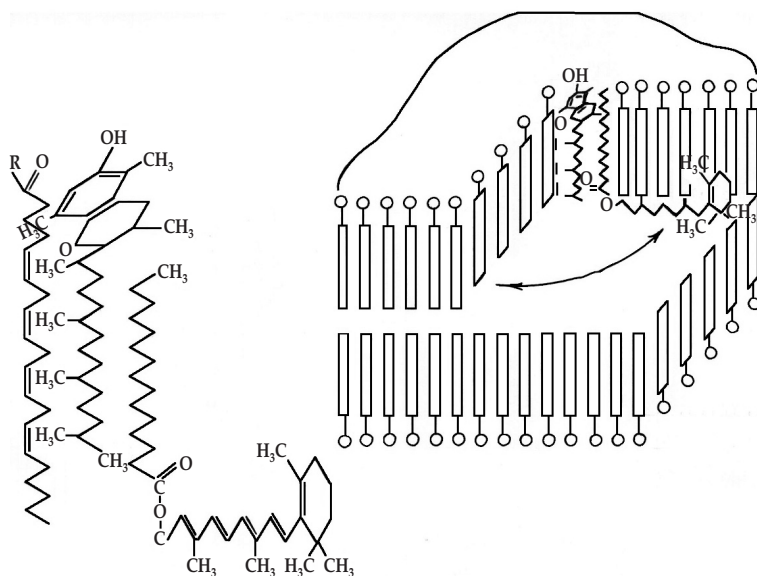
В качестве ответа на первый вопрос ранее высказывалось предположение, что углеводородная фитильная цепь  $\alpha$ -токоферола играет роль своеобразного проводника, по которому свободнорадикальные центры эстафетным путем покидают гидрофобную зону мембраны [58]. Однако трудно всерьез принимать во внимание волшебную трансформацию диэлектрика в проводник электронов. Тем не менее участие витамина Е как донора электронов в гашении липидных радикалов в составе бислоя клеточных мембран — факт, не вызывающий сомнений.

По нашему мнению, молекулы  $\alpha$ -токоферола и ретинола пальмитата способны формировать в липидном бислое мембран динамичные сенсорно-проводящие комплексы. Структурной основой такого комплекса может быть ассоциация, состоящая из одной молекулы  $\alpha$ -токоферола, одной молекулы ретинола пальмитата и остатка молекулы арахидоновой кислоты из состава фосфолипида мембраны, ориентированных определенным образом. Считается, что ОН-группа хроманольного кольца витамина Е, будучи высокополярной, находится в гидрофильной части липидного бислоя и удерживается в составе мембраны фитильной цепью посредством ее гидрофобного взаимодействия с остатками жирных кислот фосфолипидов. Наибольшую аффинность боковая цепь  $\alpha$ -токоферола, включающая в состав 16 атомов углерода, проявляет относительно полиненасыщенных жирных кислот, в частности к арахидоновой кислоте [59]. О значимости взаимодействия фитильной цепи с арахидоновой кислотой в реализации эффектов витамина Е свидетельствует тот экспериментальный факт, что удаление боковой цепи из состава  $\alpha$ -токоферола полностью лишает его антиоксидантных свойств *in vivo* [60]. По мнению некоторых исследователей, метильные группы фитильной цепи  $\alpha$ -токоферола взаимодействуют с полиненасыщенными жирными кислотами фосфолипидов и фиксируются в «карманах», формируемых *cis*-конфигурацией двойных связей, например,

арахидоновой кислоты [61]. Наличие в биомембранах ассоциаций  $\alpha$ -токоферол-арахидоновая кислота фосфолипидов проявляется:

- ингибированием неферментативного окисления полиненасыщенных жирных кислот как в модельных условиях *in vitro*, так и *in vivo*, а также поддержанием асимметрии распределения фосфолипидов в бислое мембран [62–65];
- ограничением текучести и неспецифической проницаемости биологических мембран [66–68];
- стабилизацией интегральных фосфолипаз и, по-видимому, полипептидов относительно дестабилизирующих эффектов свободных жирных кислот [69–72];
- тесным взаимодействием с интегральными NADPH-оксидазами, что предупреждает прооксидантные эффекты сигнального  $H_2O_2$  [73].

За счет гидрофобного взаимодействия остаток пальмитиновой кислоты ретинола пальмитата может связываться с ассоциированными фитильной цепью токоферола и остатком арахидиновой кислоты фосфолипида биомембраны. Вероятно, что в данном тройственном комплексе ретинол, связанный эфирной связью с пальмитиновой кислотой, находится между монослоями фосфолипидов и способен совершать вращательные движения в плоскости границы раздела этих слоев за счет подвижности одинарной связи «углерод-углерод».



При появлении в толще липидного бислоя (в любом из его монослоев) свободного радикала остатка жирной кислоты фосфолипида, активных форм и радикалов кислорода  $OH$ -группа  $\alpha$ -токоферола (восстановитель, нуклеофил) и прооксидант (окислитель, электрофил) формируют редокс-пару с окислительно-восстановительным потенциалом до нескольких вольт (редокс-потенциал гидроксильного радикала более двух вольт [74]). Для сравнения напомним, что для образования макроэргической связи необходима разность потенциалов, составляющая 0,15 В [75]. Именно поэтому ретинол, вероятно, как стрелка компаса в магнитном поле, оставаясь в плоскости границы раздела

монослоев биомембраны и совершая вращательное движение вокруг оси, совпадающей с длинником пальмитиновой кислоты, ориентируется электрическим полем в направлении прооксиданта. Далее, возможно, ретинол способен и углубляться в толщу липидного монослоя для обеспечения более плотного контакта с электрофилом.

Ретинол эффективно взаимодействует с синглетным кислородом, гидроксильными, пероксильными и супероксидными радикалами без образования нового радикала, делокализуя неспаренный электрон в системе сопряженных двойных связей [60, 76, 77]. При этом скорость взаимодействия ретинола с прооксидантами (с пероксильным радикалом) существенно превышает скорость взаимодействия последних с аллильным водородом полиненасыщенных жирных кислот [78].

Далее, по-видимому, электрон ОН-группы токоферола через ароматическое кольцо и по системе сопряженных двойных связей (делокализирующей электрон) «тракта» фитильная цепь — остаток арахидоновой кислоты передается на ретинол, восстанавливая его. Для возвращения системы в исходное состояние окисленная форма токоферола должна получить электрон от цитозольных восстановителей (аскорбата, восстановленного глутатиона и т. п.). Следует еще раз подчеркнуть, что прооксидант может быть погашен при его нахождении в любом из фосфолипидных монослоев, если он оказывается в пределах досягаемости ретинола. В результате количество молекул фосфолипидов, защищаемых ассоциацией « $\alpha$ -токоферол-арахидоноил-ретинола пальмитат», становится достаточно большим. Мы полагаем, представления о том, что антиоксидантные свойства витамина А реализуются при участии витамина Е и арахидоновой кислоты фосфолипида, снимают сомнения (существующие до настоящего времени [79]) относительно антиоксидантного потенциала и участия ретинола в ингибировании неферментативного окисления липидов.

К изложенному следует добавить, что молекулы холестерина, расположенные в бислое биомембран перпендикулярно плоскости поверхности, с ОН-группой, находящейся вблизи сложноэфирных карбонильных групп фосфолипидов [80], помимо основной функции — ограничивать текучесть мембран при 37 °С [81], по-видимому, способны расширять область гашения свободных радикалов антиоксидантным комплексом  $\alpha$ -токоферол-арахидоноил-ретинол [82, 83], имея тропность к насыщенным жирным кислотам [84]. Если принять во внимание предположение о том, что при достаточно высоком редокс-потенциале холестерин в состоянии передавать электроны, становится понятным, почему внутренняя мембрана митохондрий резко (на порядок) отличается по содержанию холестерина от наружной мембраны этих органелл. Вероятно, таким образом обеспечивается ограничение утечки электронов, хотя разность потенциалов между двумя сторонами данной мембраны составляет приблизительно лишь 0,2 В [16, 85].

В окислительно-восстановительных реакциях помимо электрона переносится и ион водорода (протон). Особенности трансфера протона в реакции «антиоксидант-прооксидант» в биомембранах обусловлены рядом обстоятельств, в том числе тем, что:

- латеральная диффузия протонов по поверхности фосфолипидного монослоя осуществляется в 20 раз быстрее, чем диффузия через объем [86];

- проницаемость липидного бислоя мембран для протонов по крайней мере в  $10^6$  раз выше, чем для других простых ионов (в том числе и электронов) [87].

Именно поэтому, скорее всего, перенос протона сначала осуществляется посредством латеральной диффузии, а в последующем — путем проникновения иона водорода непосредственно в толщу фосфолипидного бислоя к аниону восстановленного свободного радикала по градиенту электрического поля.

Способность ретинола (каротиноидов) обеспечивать трансфер электронов по системе двойных связей, как полиена играть роль субстрата неферментативного окисления может весьма негативно отразиться на процессах митохондриального окислительного фосфорилирования (вызывать деполяризацию). Для поддержания эффективной энергопродукции во внутренней митохондриальной мембране локализован фермент  $\beta, \beta$ -каротин-9',10'-оксигеназа ( $\text{BCDO}_2$ ), обеспечивающая окислительную деструкцию каротиноидов [88]. Отсутствие ретинола во внутренней митохондриальной мембране компенсируется тем, что содержание витамина Е в них на порядок превышает уровень  $\alpha$ -токоферола в других клеточных мембранах [27, 47, 48].

Наличие специфического плазмомембранного рецептора [89] и цитозольных белков-переносчиков  $\alpha$ -токоферола может свидетельствовать о том, что витамин Е обладает и другими значимыми биологическими функциями, не связанными с гашением прооксидантов [90, 91]. И действительно, помимо антиоксидантного действия,  $\alpha$ -токоферол способен:

- ингибировать активность протеинкиназы С, 5-липоксигеназы, фосфолипазы А<sub>2</sub>, экспрессию фактора MIF макрофагами; активировать протеинфосфатазу 2А, диацилглицеролкиназу и стимулировать экспрессию супероксиддисмутазы, каталазы [92–95];
- принимать участие в регуляции экспрессии генов [93, 96, 97].

На фоне длительного витамина Е-дефицита стимулируется экспрессия фактора коагуляции IX, 5- $\alpha$ -стероидредуктазы типа I и снижается активность  $\gamma$ -глутамил-цистеинил синтетазы (фермент, лимитирующий скорость синтеза глутатона) [98].

В условиях длительного витамина Е-дефицита снижается уровень экспрессии микроРНК-122а (ассоциирована с метаболизмом липидов [99]) и микроРНК-125в (ассоциирована с прогрессией опухолей и воспалением [100, 101]), что сопровождается соответствующими неблагоприятными физиологическими эффектами [102]. Биологические эффекты микроРНК (класс малых некодирующих РНК, способных комплементарно связываться с нетранслируемым регионом различных мРНК) ассоциированы с ингибированием процесса трансляции мРНК в белок [103, 104]. И поэтому снижение уровня микроРНК-125в при длительном витамине Е-дефиците, в частности, обуславливает возрастание продукции  $\text{TNF}\alpha$ , что проявляется формированием провоспалительного фона в организме [105–107].

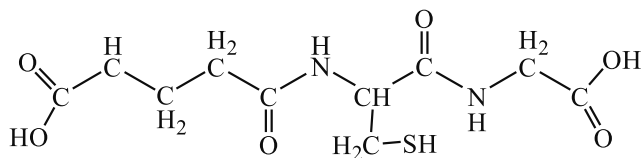
И хотя биохимические механизмы влияния  $\alpha$ -токоферола на экспрессию генов пока неизвестны [108], не вызывает сомнений то, что спектр физиологической активности витамина Е, помимо канонического антиоксидантного действия, включает и его способность регулировать экспрессию генов как на уровне транскрипции, так и на этапе трансляции [109].

Важный представитель водорастворимых антиоксидантов — аскорбиновая кислота. Наличие в структуре молекулы аскорбиновой кислоты (АК) двух енольных групп позволяет ей участвовать в окислительно-восстановительных превращениях, выступая в качестве донора и акцептора электронов и протонов. В мягких условиях, характерных для внутриклеточной среды, АК обратимо окисляется до дегидроаскорбиновой кислоты. Дальнейшее окисление до дикетогулоновой кислоты (необратимая форма) протекает при низких значениях рН ( $\text{pH} < 4,0$ ). Необратимая окислительная деградация АК тормозится натрием тиосульфатом, тиомочевинной, мочевой кислотой. Дегидроаскорбиновая кислота отличается в биологических системах столь же высокой антиоксидантной активностью, что и АК, поскольку в присутствии восстановленного глутатиона очень быстро ретроредуцируется [2, 110–112]. АК обладает чрезвычайно широким набором антиоксидантных свойств: обезвреживает гипогалоиды,  $\text{O}_2^{\cdot -}$ ,  $\text{HO}_2^{\cdot}$ ,  $\text{RO}_2^{\cdot}$ ,  $^1\text{O}_2$ ,  $\text{HO}^{\cdot}$ ,  $\text{NO}^{\cdot}$ ,  $\text{ONOO}^-$ , нитрозамины и, как уже упоминалось, восстанавливает окисленную форму  $\alpha$ -токоферола, тем самым возвращая ему антиоксидантные свойства [113–116]. В присутствии катионов металлов переменной валентности аскорбиновая кислота становится мощным прооксидантом, что обуславливает необходимость надежной секвестрации ионов переходных металлов [117, 118].

Потребность организма многих животных в аскорбиновой кислоте покрывается посредством эндогенного синтеза, однако для человека, приматов, морской свинки, летучей мыши она является витамином в силу отсутствия ключевого энзима синтеза аскорбата — L-гулонолактонооксидазы [119, 120]. Недостаток витамина С в рационе таких животных приводит к неблагоприятным последствиям [121, 122]. Патологические изменения в организме человека при витамин С-дефиците ассоциированы не только с антиоксидантными эффектами аскорбиновой кислоты. Помимо антиоксидантного действия, аскорбат в качестве кофактора участвует в биосинтезе коллагена [123, 124] и карнитина — необходимого элемента транспорта жирных кислот в митохондрии для последующего  $\beta$ -окисления [125], обеспечивает ферментативное конвертирование допамина в норадреналин [126, 127] и рециклирование протеогликана (гепарансульфата) глипикан-1, контролирующего регуляцию клеточного деления и роста [128, 129]. Кроме того, аскорбат — активный участник редокс-гомеостатирования внутриклеточной среды [130].

Содержание витамина С в плазме крови и тканях тесно коррелирует с количеством аскорбата, поступающего в организм с пищей. У здоровых людей уровень аскорбиновой кислоты контролируется объемом абсорбции из желудочно-кишечного тракта, накоплением в тканях, рециклированием и почечной реабсорбцией. В условиях оксидативного стресса обеспеченность организма аскорбатом в значительной степени определяется скоростью утилизации антиоксиданта, т. е. необратимым окислением до кетогулоновой кислоты [131]. И это действительно требует парентерального восполнения уровня витамина С в организме [132–134].

Особую роль в функционировании антиоксидантной системы организма играют соединения, в состав которых входят серосодержащие аминокислоты цистеин и метионин. Наиболее значимое место среди водорастворимых тиолов принадлежит глутатиону (G-SH). Глутатион — трипептид, включающий остатки аминокислот глутамата, цистеина и глицина:



Отличается наличием необычной пептидной связи между аминогруппой цистеина и карбоксильной группой боковой цепи глутамата. Это основной тиоловый участник клеточных редокс-реакций (редокс-гомеостатирования) и важный компонент реакций детоксикации большинства эндо- и экзогенных гидрофобных субстанций [135, 136]. Уровень глутатиона в клетках может достигать 10 ммоль, а наиболее высокая концентрация G-SH определяется в ткани печени, где он синтезируется [137, 138]. Обращает на себя внимание плейотропность эффектов глутатиона. Основные проявления биологической активности G-SH связаны:

- с восстановлением прооксидантов, окисленных форм аскорбиновой кислоты и  $\alpha$ -токоферола [139–143], последнее (ретроредукция витамина E), по-видимому, происходит энзиматически [144] или опосредуется аскорбатом [145];
- с регулированием цикла азота [146, 147];
- с участием в таких биохимических и метаболических реакциях, как репарация и синтез ДНК, белков, транспорт аминокислот, поддержание активности энзимов, синтез простагландинов [148–153];
- с обеспечением S-конъюгации гидроксильированных гидрофобных субстанций, что облегчает их выведение из клеток [154];
- с редокс-регуляцией экспрессии генов [155–157].

Существуя в двух формах – восстановленной (G-SH; более 90% от общего количества) и окисленной (G-S-S-G), вместе с другими тиолами белковой и небелковой природы, глутатион формирует окислительно-восстановительную тиол-дисульфидную систему [158–160]. Установлено, что SH-содержащие соединения подвергаются окислению в первую очередь, предохраняя тем самым от окисления другие субстраты [161]. Сдвиги равновесия (соотношения) между SH- и S-S-формами тиолов приводят к радикальной перестройке режимов жизнедеятельности клетки: сопровождаются изменением функционального состояния клеточных рецепторов и факторов транскрипции, активности ферментов (в том числе антиоксидантных), проницаемости клеточных мембран, интенсивности метаболических процессов [162]. Отклонение равновесия в сторону дитиолов может оказаться критическим для клеточных физиологических процессов и имеет существенное значение в генезе различных форм патологии [163–167]. Именно поэтому соотношение восстановленных и окисленных форм тиолов в биосредах, их способность к окислительной модификации, в основном определяющей антирадикальную емкость биосред, считаются важными критериями неспецифической резистентности организма [143, 168, 169]. Поддержание должного уровня глутатиона в клетке обеспечивается посредством синтеза G-SH и восстановления G-S-S-G с участием энзима глутатионредуктазы [170]. Синтез *de novo* и глутатиона, и глутатионредуктазы контролируется ядерным фактором транскрипции Nrf2 [171]. Определенную роль в экстренных ситуациях играет и десорбция данного трипептида из связей с белками [137, 172].



Глутатион принято считать узловым звеном биохимического гомеостатирования внутренней среды организма [173, 174].

Однако в целом ряде случаев, в том числе при оксидативном стрессе, имеет место существенное снижение содержания G-SH в клетках со всеми вытекающими из этого последствиями. Естественно, такая неблагоприятная динамика вызывает заинтересованность специалистов в коррекции уровня глутатиона в организме при патологических состояниях, но клеточные (цитоплазматические) мембраны непроницаемы для водорастворимого трипептида, а через внутриклеточные мембраны G-SH транспортируется специальными переносчиками [175]. Именно поэтому попытки терапевтического использования восстановленного глутатиона путем внутривенного, перорального назначения данного трипептида успехом не увенчались [176], и более того, сопровождались побочными эффектами [160]. Очевидно, для повышения уровня G-SH в клетках требуются иные подходы.

Восполнение пула глутатиона, как адаптивная реакция при оксидативном стрессе, осуществляется путем синтеза *de novo* GSH-трипептида из аминокислот-предшественников: L-цистеина, L-глутаминовой кислоты и глицина. Двухступенчатый, АТФ-зависимый синтез G-SH катализируется  $\gamma$ -глутамилцистеинлигазой ( $\gamma$ -ГЦЛ; образует дипептид  $\gamma$ -глутамилцистеин) и глутатионсинтазой (ГС; обеспечивает С-концевое присоединение глицина к  $\gamma$ -глутамилцистеину). В качестве скорость-лимитирующих факторов процесса синтеза глутатиона выступают активность  $\gamma$ -ГЦЛ и биодоступность аминокислоты L-цистеин [172, 177, 178]. Поскольку экспрессия энзимов синтеза глутатиона,  $\gamma$ -глутамилцистеинлигазы в частности, контролируется ядерным фактором транскрипции Nrf2, постольку наиболее эффективное решение проблемы поддержания пула G-SH при патологических состояниях на должном уровне — стимуляция активности Nrf2 при достаточной обеспеченности организма L-цистеином [171, 179].

Цистеин — полунезаменимая аминокислота (при условии обеспеченности метионином) в свободном состоянии токсичная для организма, спонтанно претерпевающая катаболическую трансформацию в желудочно-кишечном тракте и плазме крови [180–183]. Для восполнения пула цистеина целесообразно использование соединений-предшественников, в частности N-ацетилцистеина (N-АЦЦ). N-АЦЦ был предложен более четверти века тому назад в качестве антидота при отравлениях ацетаминофеном для восполнения убыли и замещения G-SH в клетках печени [184–186]. В последующем N-ацетилцистеин стал применяться и как муколитический агент, быстро абсорбирующийся в ЖКТ ( $t_{1/2}$  в организме 6,25 часа), расщепляющий дисульфидные связи в бронхиальном секрете [187–189]. При назначении N-ацетилцистеина не только увеличивается уровень внутриклеточного глутатиона, но и тормозится активация прокарциногенов [190]. Кроме того, N-АЦЦ способен заменять G-SH в качестве субстрата в реакциях микросомальной конъюгации, катализируемых глутатион-S-трансферазами [191], и обладает прямой антиоксидантной активностью [192]. В настоящее время данное лекарственное средство находит весьма широкое клиническое применение [193].

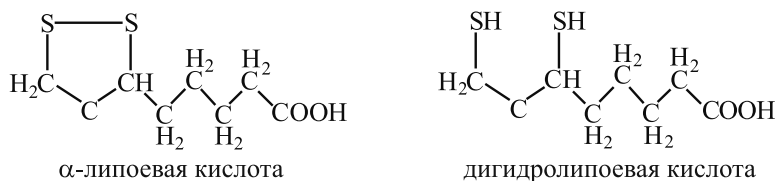
В силу нарушения метаболических и биосинтетических процессов, циркуляторных расстройств при патологических состояниях на фоне оксидативного стресса, да и инертности механизмов синтеза *de novo* глутатиона, т. е. в критических

ситуациях, назначение аминокислот-предшественников G-SH трудно отнести к категории оптимального решения проблемы фармакологической коррекции тиол-дисульфидного баланса. В таких случаях более предпочтительным выглядит использование низкомолекулярных тиолов, обладающих низким показателем токсичности, способностью проникать через биологические барьеры и формировать внутриклеточные окислительно-восстановительные системы. Среди массы тиоловых соединений на первом плане — дитиолы, имеющие большую антирадикальную емкость в сравнении с монотиолами.

В 1995 году были сформулированы требования к идеальному антиоксиданту [194]:

- полная и быстрая абсорбируемость из желудочно-кишечного тракта;
- быстрая биоконверсия в клетках и тканях в активную форму;
- плейотропность антиоксидантных эффектов в полярных и неполярных биосредах (включая взаимодействие с другими антиоксидантами);
- малая токсичность.

Этим требованиям соответствует альфа-липоевая кислота (ЛК; тиоктовая кислота) — дитиол природного происхождения, эндогенно синтезируемый растениями и животными, включая человека, из октановой (каприловой) кислоты и цистеина (как донора SH-групп) [195]. Эндогенная  $\alpha$ -липоевая кислота ковалентно связана в качестве кофактора с полипептидными цепями пируватдегидрогеназы и  $\alpha$ -кетоглутарат-дегидрогеназы, являющихся митохондриальными ферментами окислительного декарбоксилирования  $\alpha$ -кетокислот [196]. После поступления в клетку альфа-липоевая кислота (окисленная форма дитиола) при участии редуктаз (глутатионредуктазы, тиоредоксинредуктазы, лактадегидрогеназы) быстро конвертируется в дигидролипоевую кислоту (ДЛК) [197]:



Уровень ЛК и ДЛК в плазме крови здоровых людей составляет 1–25 нг/мл и 33–145 нг/мл соответственно [198].

Липоевая кислота обладает уникальным (эталонным) комплексом антиоксидантных свойств:

- тиоктовая кислота, будучи тропной и к полярным, и к неполярным средам, легко преодолевает биологические барьеры [199–201] и эффективно ингибирует свободнорадикальные реакции как в липидном бислое биологических мембран, так и в цитозоле клеток [202];
- антиоксидантные эффекты присущи и восстановленной, и окисленной формам липоевой кислоты (в отличие от других антиоксидантов) [203–206];
- дигидролипоевая кислота, как редуцирующий агент (ОВП –320 мВ [208]), способна восстанавливать окисленные формы глутатиона (ОВП –250 мВ [208]) и антиоксидантных витаминов (ОВП аскорбата –282 мВ [208]), выступая в качестве их синергистов [197, 203, 207], рециклируя аскорбат эффективнее восстановленного глутатиона [209];

- под влиянием липоевой кислоты в результате увеличения импорта клетками цистеина и стимуляции экспрессии  $\gamma$ -глутамилцистеинлигазы ускоряется синтез глутатиона в организме [199];
- липоевая кислота не только эффективно восстанавливает различные прооксиданты, но и ингибирует экспрессию провоспалительных цитокинов [210];
- окисленная и восстановленная формы липоевой кислоты эффективно хелатируют катионы тяжелых металлов [200, 201, 205], в том числе ионы железа и меди [195, 211–213], лишая их каталитической активности;
- альфа-липоевая кислота эффективна и безопасна как терапевтическое средство при фармакологической коррекции патологических состояний, ассоциированных с оксидативным стрессом [214–216].

Липоевая кислота синтезируется в организме в минимально необходимом для покрытия метаболических потребностей объеме. С возрастом и на фоне патологических состояний эндогенная продукция липоевой кислоты снижается [217]. Именно поэтому в условиях оксидативного стресса возникает потребность в липоевой кислоте, которая может (должна) быть удовлетворена за счет поступления дитиола из внешних источников [218].

Привлекает внимание применение в качестве антиоксидантов и синтетических дитиолов, в первую очередь унитиола (2,3-дитиолпропансульфонат натрия), являющегося официальным препаратом [219], предназначенным для лечения отравлений тяжелыми металлами, люизитом, хронического алкоголизма. В литературе имеются данные и об антиоксидантной активности данного лекарственного средства [220–222]. Унитиол представляет собой малотоксичный препарат, оказывающий выраженное мембранопротективное действие в результате мощного ингибиторного влияния на процессы перекисного окисления липидов. Данный дитиол эффективно детоксицирует альдегиды, способствует увеличению уровня эндогенных антиоксидантов и не обладает прооксидантной активностью [223]. Унитиол легко преодолевает биологические барьеры, обладает большей, в сравнении с монотиолами, антирадикальной емкостью, в организме формирует окислительно-восстановительную систему, восстанавливаясь в присутствии НАД (Ф)Н различными редуцтазами.

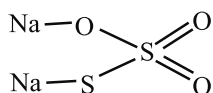
В наших полнофакторных экспериментах установлено [224]:

- в наибольшей степени антиоксидантный потенциал унитиола реализуется при его назначении в комплексе с водо- и жирорастворимыми антиоксидантами;
- оптимальное молярное соотношение антиоксидантов в комплексе унитиол-аскорбат- $\alpha$ -токоферол 3:1:1;
- назначение унитиола в комплексе с жирорастворимыми антиоксидантами обеспечивает высокую клиническую эффективность антиоксидантной терапии [225].

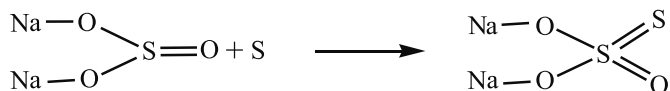
Приступая к рассмотрению вопроса, касающегося антиоксидантных свойств натрия тиосульфата ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) и селена, укажем, что оба препарата внесены в Регистр лекарственных средств России [226]. Натрия тиосульфат выпускается в виде 30% раствора в ампулах, а селен — в составе таблеток по 0,05 мг, содержащих витамин и цинк (Selzinc plus).

Натрия тиосульфат можно представить как моносουλфат, у которого один атом кислорода замещен атомом серы. При этом атомы серы в структуре

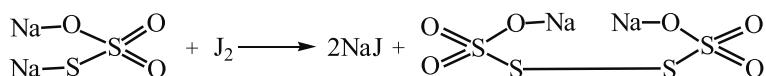
тиосульфата не идентичны и имеют разную степень окисления. Центральному атому серы можно приписать степень окисления +6, а присоединенному — степень окисления -2:



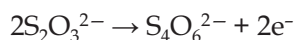
В соответствии со способом получения этой соли посредством простого присоединения серы к  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  можно ожидать, что процесс пойдет по схеме:



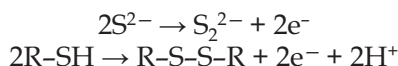
Натрия тиосульфат, будучи восстановителем, легко окисляется даже слабыми окислителями, в частности йодом [227, 228], и данная реакция, ведущая к образованию тетраионовокислого натрия, указывает на иную структурную формулу, представленную ранее:



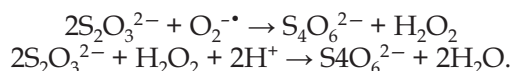
Считается, что натрия тиосульфат при введении в организм оказывает противотоксическое, противовоспалительное, десенсибилизирующее действие [229]. Однако в последнее время этот препарат все чаще стали использовать в качестве антиоксиданта [230–236]. При растворении в воде  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  диссоциирует с образованием тиосульфат-иона  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ . Окисление тиосульфат-иона до тетраионат-иона:



происходит аналогично окислению сульфид-иона до дисульфид-иона [228] или тиолов до дитиолов:



Однако, в отличие от биологических тиолов (цистеинсодержащих пептидов и белков) натрия тиосульфат в биосредах не способен формировать окислительно-восстановительную систему, аналогичную тиол-дисульфидной, т. е. его окисление в организме, по-видимому, необратимо. Обладая свойствами восстановителя, натрия тиосульфат (тиосульфат-ион) смещает значения окислительно-восстановительного потенциала биосред в сторону восстановительных показателей и тем самым накладывает определенный термодинамический запрет на существование прооксидантов, играя роль их гасителя, т. е. антиоксиданта:



Селен — аналог серы, относится к 6-й группе химических элементов периодической системы, его содержание в земной коре незначительно и составляет  $5 \cdot 10^{-6}\%$ . Из-за неравномерного распределения селена в земной коре регионы существенно различаются по содержанию элементу в почве и растениях, что порождает ряд медико-биологических проблем [237]. До недавнего времени селен привлекал внимание специалистов медико-биологического профиля лишь как высокотоксичная субстанция [238], и любые субконцентрации данного аналога серы, обнаруженные в организме, расценивались как признак отравления. Однако экспериментальные данные, подтверждающие токсичность селена, весьма разноречивы. В процессе исследований установлено неблагоприятное влияние на организм и дефицита селена. Обобщенные данные по этому вопросу представлены в табл. 6.

Таблица 6

**Действие селена на организм при различном содержании его в пище и воде [238]**

Суммарная суточная доза, мг/кг	Доза селена, мг/кг		Отношение ПДК селена в воде к суммарной дозе	Действие
	поступающая с пищей	поступающая с водой		
0,0025–0,0033	0,003	0,0003	1/70	Оптимальное
0,0033	0,00072	0,00008	1/16	Дефицит
0,75	0,67	0,08	1/15000	Токсическое

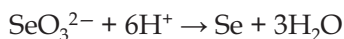
Эпидемиологические исследования, проведенные в ряде стран [239–245], выявили тесную отрицательную корреляционную связь между заболеваемостью населения злокачественными новообразованиями и содержанием селена в объектах внешней среды. Снижение уровня селена в крови ниже 45 мкг/л (при норме 150–250 мкг/л [246]) увеличивает риск возникновения раковых заболеваний [247]. Для полноты картины следует подчеркнуть: имеются убедительные данные и о том, что селен не уменьшает риск возникновения раковых заболеваний среди относительно здоровых людей [248]. Такая неоднозначность, вероятно, может быть обусловлена тем, что протекторные эффекты селена реализуются только на фоне его дефицита.

Оказалось, что патологические изменения в яичках, печени, почках, сердце, легких, поджелудочной железе и мышцах, которые ранее связывали с проявлениями дефицита витамина Е, в действительности в большинстве случаев являются следствием двойной недостаточности — витамина Е и селена [249]. Установление роли селена как незаменимого микроэлемента для организма послужило основанием для внесения его в ряде стран в список облигатных микронутриентов для беременных и кормящих матерей [250].

Особая роль селена в организме связана с антиоксидантным влиянием данного химического элемента на процессы свободнорадикального окисления [251–256]. Высокая антиоксидантная активность придает соединениям селена противолучевые свойства, более выраженные, чем у тиоловых препаратов [257–261]. Селен входит в состав активного центра глутатионпероксидазы и при введении

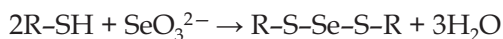
в организм увеличивает активность как данного энзима, так и тесно связанных с ним супероксиддисмутазы и глутатионредуктазы [254, 262–264]. И именно влиянием на активность селензависимых ферментов объясняли антиоксидантные эффекты соединений данного химического элемента [237]. Но такое объяснение разнообразия биологической активности селена не выдерживает критики.

Несмотря на обилие публикаций, до недавнего времени представления о механизмах реализации антиоксидантных эффектов селена были весьма туманными в силу того, что внимание исследователей привлекала феноменология откликов организма на поступление/депривацию данного химического элемента, оно сосредоточивалось на клинических и эпидемиологических аспектах биологической роли микроэлемента [255]. Наиболее часто в исследованиях в качестве модельного соединения используется селенит натрия —  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ . В наших экспериментах нашло подтверждение неоднократно описанное свойство селенита натрия увеличивать эффективность жирорастворимых антиоксидантов и установлен синергизм антиоксидантных эффектов препарата селена и натрия тиосульфата. И это при том, что сам по себе селенит натрия, имеющий в своем составе атом Se со степенью окисления +4, обладает свойствами довольно-таки энергичного окислителя. Значение стандартного окислительно-восстановительного потенциала для системы:



составляет +0,74 В [54]. Из этого следует, что селенит-анион потенциально способен окислять многие органические и неорганические соединения, т. е. играть в организме роль прооксиданта, превращаясь при этом в элементарный селен. Действительно, селенитный анион окисляет аскорбиновую кислоту до дегидроаскорбата [265], а ненасыщенные углеводороды способен трансформировать в спирты [266].

Следует отметить, что тиолы при взаимодействии с соединениями селена (+4) образуют селенодисульфиды [267, 268]:

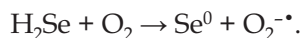


В последние годы установлено, что селенит-анион и селенодисульфиды (селеноглутатион, селеноцистеин) под влиянием тиоредоксинредуктазы быстро конвертируется в селенид ( $\text{H}_2\text{Se}$ ) и восстановленные тиолы [269].  $\text{H}_2\text{Se}$  — биологически доступная для синтеза селеноцистеина (21 аминокислота) форма селена в организме млекопитающих. Под влиянием селенофосфатсинтетазы 1 селенид в присутствии АТФ конвертируется в селенофосфат [270], используемый в последующем в качестве донора селена в процессе синтеза селеноцистеина [271]. Селенофосфат отличается способностью энергично присоединяться к О-фосфосерил-tРНК[Ser/Sec] и уже после этого взаимодействия серил-tРНК[Ser/Sec] селеноцистеинсинтетазой конвертируется в селеноцистил-tРНК[Ser/Sec]. Селеноцистил-tРНК[Ser/Sec], обладая антикодоном к UGA-кодону SECIS (некодирующий сигнальный регион) мРНК, в операции с SECIS-ассоциированными транс-активирующими факторами, участвует в синтезе селенопротеинов [272–274]. Только около 30% из общего пула Se, находящегося в организме, входит в виде селеноцистеина в состав полипеп-

тидной цепи глутатионпероксидаз, а остальные 70% — в состав других (30–50) селенопротеинов [275].

Но вполне возможны и другие пути реализации антиоксидантного потенциала соединений селена. Известно, что сероводород ( $\text{H}_2\text{S}$ ) способен оказывать выраженное стимулирующее влияние на активность ядерного фактора транскрипции Nrf2, контролирующего экспрессию антиоксидантных энзимов, и ингибировать ядерную транслокацию фактора NF- $\kappa$ B (контролирует экспрессию провоспалительных факторов) [276–279]. Поэтому селеноводород ( $\text{H}_2\text{Se}$ ), по химическим свойствам во многом напоминающий сероводород, может рассматриваться в качестве потенциального стимулятора активности фактора Nrf2.

Учитывая уникальность биосинтеза, сложность механизмов внедрения селеноцистеина в полипептидную цепь и инертность процесса синтеза белков, до последнего времени трудно было объяснить быстроту проявления антиоксидантных эффектов селена после его поступления в биосреду организма. И только совсем недавно стало ясно, что основными носителями антиоксидантных свойств селена являются селеноцистин (окисленная форма селеноцистеина) и селенометионин, обладающие выраженной хелатирующей активностью (стехиометрия связывания 1:1) относительно ионов металлов переменной валентности [280]. А поскольку скорость и объем утилизации селена в организме ограничены, избыток данного микроэлемента, учитывая его реакционную способность, весьма опасен. В качестве основного механизма токсического (прооксидантного) действия селена (помимо селенирования тиолов) постулируется способность селенида конвертировать триплетный кислород в супероксидный анион-радикал [281]:



## Литература

1. Барабой В. А., Брехман И. И., Голотин В. Г., Кудряшов Ю. Б. Перекисное окисление и стресс. — СПб.: Наука, 1992. — 148 с.
2. Воскресенский О. Н., Бобырев В. Н. Биоантиоксиданты — облигатные факторы питания // Вопр. мед. химии. — 1992. — № 38 (4). — С. 21–26.
3. Рябченко Н. И., Иванник Б. П., Хорохорина В. А. и др. Молекулярные, клеточные и системные механизмы радиопротекторного действия поливитаминовых антиоксидантных комплексов // Радиационная биология. — 1996. — № 36 (6). — С. 895–898.
4. Степура И. И. Антиоксидантные свойства витаминов и их комплексов с белками крови // Вопр. мед. хим. — 1992. — № 38 (4). — С. 26–33.
5. Суколинский В. Н. Перспективы применения антиоксидантов в комбинированном лечении злокачественных опухолей // Вопр. онкологии. — 1990. — № 36 (2). — С. 138–144.
6. Морозова Т. С., Суколинский В. Н., Стрельников А. В. Избирательное влияние комплекса витаминов Е, А, С на антиоксидантную защиту опухолевых и нормальных тканей // Вопр. мед. химии. — 1991. — № 37 (6). — С. 59–61.
7. Плужников Н. Н., Чиж С. И., Юзвинкевич Л. С. и др. Оксидативный стресс. Фундаментальные и прикладные проблемы // Актуальные проблемы и перспективы развития военной медицины: Научн. тр. НИИЦ (МБЗ). — СПб., 2000. — Т. 2. — С. 193–223.

8. *Gupta A., Singh S., Jamal F. et al.* Synergistic effects of glutathione and vitamin E on ROS mediated ethanol toxicity in isolated rat hepatocytes // *Asian. J. Biochem.* – 2011. – № 6 (4). – С. 347–356.
9. *Рутковская Ж. А.* Антиоксидантная система организма и ее коррекция новым комплексом  $\beta$ -каротина и витаминов А, Е, С при действии ионизирующего излучения.: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Минск, 1996. – 17 с.
10. *Tesoriere L., Bongiorno A., Pintandi A. M. et al.* Synergistic interactions between vitamin A and vitamin E against lipid peroxidation in phosphatidylcholine liposomes // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1996. – № 326 (1). – С. 57–63.
11. *Fukuzawa K., Chida H., Ouchi S. et al.* The antioxidant characteristics of alpha-tocopherol in liposomes // *Vitamins.* – 1982. – № 56 (12). – С. 641–652.
12. *Меджидов М. М., Алиев А. А., Рзаева Д. А. и др.* Антимутагенная активность селена, альфа-токоферола и их сочетания при воздействии нитрозодиметилamina, активированного ин витро // Тез. докл. IV конф. «Биоантиоксидант». – М., 1993. – Т. 1. – С. 138.
13. *Холмухамедова Н. М., Зиямутдинова З. К., Николаев А. И.* Стабилизирующее действие альфа-токоферола и селенита натрия на фосфолипидные липосомы // Тез. докл. IV конф. «Биоантиоксидант». – М., 1993. – Т. 1. – С. 180.
14. *Холмухамедова Н. М.* Комплекс липосом с альфа-токоферолом и селенитом натрия – мощный антиоксидант // Тез. докл. IV конф. «Биоантиоксидант». – М., 1993. – Т. 1. – С. 93–94.
15. *Ghaffari T., Nouri M., Irannejad E., Rashidi M. R.* Effect of vitamin E and selenium supplement on paraoxonase-1 activity, oxidized low density lipoprotein and antioxidant defense in diabetic rat // *BioImpact.* – 2011. – № 1 (2). – P. 121–128.
16. *Геннис Р.* Биомембраны: молекулярная структура и функции: Пер. с англ. – М.: Мир, 1997. – 624 с.
17. *Aojama S., Ohta H., Fujishiro N. et al.* Fatty acid peroxides and antioxidants in rabbit tissue // *Jap. Heart J.* – 1975. – Vol. 8 (2). – P. 142–147.
18. *Constantinescu A., Han D., Pacher L.* Vitamin E recycling in human erythrocyte membranes // *J. Biol. Chem.* – 1993. – Vol. 268 (15). – P. 1096–10913.
19. *Flora S. J. S.* Structural, chemical and biological aspects of antioxidants for strategies against metal and metalloid exposure // *Oxid. Med Cell. Longev.* – 2009. – Vol. 2 (4). – P. 191–206.
20. *Fragata M., Bellmare F.* Model of singlet oxygen scavenging by  $\alpha$ -tocopherol in biomembranes // *Chem. Phys. Lipids.* – 1980. – Vol. 27 (2). – P. 93–99.
21. *Mc Cay B., Froud K. L., Lai K., King M. M.* Possible role of vitamin E as a free radical scavenger and singlet oxygen quencher in biological systems with initial radical-mediated reactions Tocopherol, oxygen and biomembranes. – Amsterdam; New York, 1978. – P. 41–57.
22. *Witz G., Goldstein B. D.* Retinoid inhibition of superoxide anion radical production by human polymorphonuclear leukocytes stimulated with tumor promoters // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1980. – Vol. 97 (3). – P. 883–888.
23. *Иванов И. И., Тарусов Б. Н.* Молекулярные механизмы действия токоферолов в биологических системах // Свободнорадикальное окисление липидов в норме и патологии. М.: Наука, 1976. – С. 105–106.
24. *Lee J., Koo N., Min D. B.* Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals // *CRFSFS.* – 2004. – Vol. 3 (1). – P. 21–33.



25. Niki E. Alpha-tocopherol Cadenas E., Packer L. (eds.). Handbook of antioxidants. — N. Y.: Marcel Dekker, 1996. — P. 3–26.
26. Burton G. W., Ingold L. U. Autoxidation of biological molecules. 1. The antioxidant activity of vitamin E and related chain-breaking phenolic antioxidants *in vitro* // J. Am. Chem. Soc. — 1981. — Vol. 103 (21). — P. 6472–6477.
27. Pekiner B. D. Vitamin E as an antioxidant // J. Fac. Pharm. Ankara. — 2003. — Vol. 32 (4). — P. 243–267.
28. Храпова Н. Г. Кинетические особенности действия токоферолов как антиоксидантов // Биофизика. — 1977. — Vol. 22 (3). — P. 436–443.
29. Sies H., Murphy M. E. Role of tocopherols in the protection of biological systems against oxidative damage // J. Photochem. Pathobiol. B. — 1991. — Vol. 8 (2). — P. 211–218.
30. Halpner A. D., Handelman G. J., Harris J. M. et al. Protection by vitamin C of loss of vitamin E in cultured rat hepatocytes // Arch. Biochem. Biophys. — 1998. — Vol. 359 (2). — P. 305–309.
31. May S. M., Qu Z. C., Mendiratta S. Protection and recycling of  $\alpha$ -tocopherol in human erythrocytes by intracellular ascorbic acid // Arch. Biochem. Biophys. — 1998. — Vol. 349 (2). — P. 281–289.
32. Scarpa M., Rigo A., Majorino M. et al. Formation of alpha-tocopherol radical and recycling of alpha-tocopherol by ascorbate during peroxidation of phosphatidylcholine liposomes. An electron paramagnetic resonance study // Biochim. Biophys. Acta. — 1984. — Vol. 801 (2). — P. 215–219.
33. Брабой В. А. Ретиноиды и рак Научно-технический прогресс в медицине и биологии. — Киев, 1985. — С. 280–295.
34. Kensler T. W., Trush M. A. Inhibition of phorbol-ester-stimulated chemiluminescence in human polymorphonuclear leukocytes by retinoic acid and 5,6-epoxyretinoic acid // Cancer Res. — 1981. — Vol. 41 (5). — P. 1662–1871.
35. Sies H., Stahl W. Vitamin E and C,  $\beta$ -carotene, and other carotenoids as antioxidants // Am. J. Clin. Nutr. — 1995. — Vol. 62 (6). — P. 1315S–1321S.
36. Palace V. P., Khaper N., Qin Q., Singal P. K. Antioxidant potentials of vitamin A and carotenoids and their relevance for heart disease // Free Rad. Biol. Med. — 1999. — Vol. 26 (5–6). — P. 746–761.
37. Young J. S., Lowe G. M. Antioxidant and prooxidant properties of carotenoids // Arch. Biochem. Biophys. — 2001. — Vol. 385 (1). — P. 20–27.
38. Krinsky N. I., Johnson E. J. Carotenoid actions and their relation to health and disease // Mol. Aspects Med. — 2005. — Vol. 26 (6). — P. 459–516.
39. Авакян А. О., Мкртчян М. А., Тапалцян С. Х. и др. Селен, витамин А как защитные вещества при хронической хлоропреновой интоксикации // Теоретические и прикладные аспекты изучения питания человека. — М.: НИИ Питания АМН СССР, 1980. — С. 114.
40. Плещитый К. Д., Лидак М. Ю. Витамин А и синтетические ретиноиды в иммунологии и онкологии. — Рига: Зинатне, 1984. — 128 с.
41. Stephensen C. B. Vitamin A, infection and immune function // Annu. Rev. Nutr. — 2001. — Vol. 21. — P. 167–192.
42. Ross A. C. Vitamin A supplementation and retinoic acid treatment in the regulation of antibody responses *in vivo* // Vitam. Horm. — 2007. — Vol. 75. — P. 197–222.
43. Keino H., Watanabe T., Sato Y., Okada A. Anti-inflammatory effect of retinoic acid on experimental autoimmune uveoretinitis // Br. J. Ophthalmol. — 2010. — Vol. 94. — P. 802–807.

44. Prystowsky J. H., Smith J. E., Goodman DeWitt S. Retinyl palmitate hydrolase activity in normal rat liver // *J. Biol. Chem.* — 1981. — Vol. 256 (9). — P. 4498–4503.
45. De Luca L. M., Brugh M., Silverman-Jones C. S. Retinyl palmitate, retinyl phosphate, and dolichyl phosphate of postnuclear membrane fraction from hepatoma, host liver, and regenerating liver: marginal vitamin A status of hepatoma tissue // *Cancer Res.* — 1984. — Vol. 44 (1). — P. 224–232.
46. Henn F. A., Thompson T. E. Synthetic lipid bilayer membranes // *Annu. Rev. Biochem.* — 1969. — Vol. 38. — P. 241–262.
47. Evarts R. P., Bieri J. G. Ratios of polyunsaturated fatty acids to  $\alpha$ -tocopherol in tissues of rats fed corn or soybean oils // *Lipid.* — 1974. — Vol. 9 (11). — P. 860–864.
48. Buttriss J. L., Diplock A. T. The relationship between  $\alpha$ -tocopherol and phospholipid fatty acids in rat liver subcellular membrane fractions // *Biochim. Biophys. Acta.* — 1988. — Vol. 962 (1). — P. 81–90.
49. Kagan V. E., Serbinova E. A., Bakalova R. A. et al. Mechanisms of stabilization of biomembranes by alpha-tocopherol: the role of the hydrocarbon chain in the inhibition of lipid peroxidation // *Biochem. Pharmacol.* — 1990. — Vol. 40 (11). — P. 2403–2413.
50. Erin A. N., Spirin M. M., Tabidze L. V., Kagan V. E. Formation of alpha-tocopherol complexes with fatty acids. Possible mechanism of biomembrane stabilization by vitamin E // *Biokhimiya.* — 1983. — Vol. 48 (11). — P. 1855–1861.
51. Edge R., Land E. J., McGarvey D. et al. Relative one-electron reduction potentials of carotenoid radical cations and the interactions of carotenoids with the vitamin E radical cation // *J. Am. Chem. Soc.* — 1998. — Vol. 120 (17). — P. 4087–4090.
52. Dobrucki R., Radomska A. Retinol palmitate as a model substance to test antioxidant properties *in vitro* on the example of captopril // *Pharmazie.* — 2002. — Vol. 57 (9). — P. 635–637.
53. Haila K. Effects of carotenoids and carotenoid-tocopherol interaction on lipid oxidation *in vitro* // *Academ. Dissertation.* — University of Helsinki, Helsinki, 1999. — 64 p.
54. Турьян Я. И. Окислительно-восстановительные потенциалы в аналитической химии. — М.: Химия, 1989. — 243 с.
55. Bartfay W. Y., Hou D., Brittenham G. M. et al. The synergistic effects of vitamin E and selenium in iron-overloaded mouse hearts // *Can. J. Cardiol.* — 1998. — Vol. 14 (7). — P. 936–941.
56. Sahin K., Sahin N., Yaralioglu S., Onderci M. Protective role of supplemental vitamin E and selenium on lipid peroxidation, vitamin E, vitamin A, and some mineral concentration of Japanese quails under heat stress // *Biol. Trace Element Res.* — 2002. — Vol. 85 (1). — P. 59–70.
57. Naziroglu M., Karaoglu A., Aksoy A. O. Selenium and high dose vitamin E administration protects cisplatin-induced oxidative damage to renal, liver and lens tissues in rats // *Toxicology.* — 2004. — Vol. 195 (2–3). — P. 221–230.
58. Иванов И. И. Эстафетные механизмы в процессах перекисного окисления липидов биологических мембран // *Успехи соврем. биологии.* — 1984. — Vol. 25 (1). — P. 110–124.
59. Erin A., Skrypin V. V., Kagan V. E. Formation of  $\alpha$ -tocopherol complexes with fatty acids. Nature of complexes // *Biochim. Biophys. Acta. Biomembr.* — 1985. — Vol. 815 (2). — P. 209–214.
60. Burton G. W., Ingold K. U. Beta-carotene: an unusual type of lipid antioxidant // *Science.* — 1984. — Vol. 224 (4649). — P. 569–573.

61. Diplock A. T., Lucy J. A. The biochemical modes of action of vitamin E and selenium: a hypothesis // FEBS Lett. — 1973. — Vol. 29 (3). — P. 205–210.
62. Jain S. K. Vitamin E and stabilization of membrane lipid organization in red blood cells with peroxidative damage // Biomed. Biochim. Acta. — 1983. — Vol. 42. — P. 43–47.
63. Jain S. K. *In vivo* externalization of phosphatidylserine and phosphatidylethanolamine in the membrane bilayer and hypercoagulability by the lipid peroxidation of erythrocytes in rats // J. Clin. Invest. — 1985. — Vol. 76 (1). — P. 281–286.
64. Yamashita K., Kagaya M., Higuti N., Kiso Y. Sesamin and alpha-tocopherol synergistically suppress lipid-peroxide in rats fed high docosahexaenoic acid diet // Biofactors. — 2000. — Vol. 11 (1-2). — P. 11–13.
65. Arai H., Uchida K., Fukunaga K. et al. Effect of alpha-tocopherol on the oxidative modification of apolipoprotein E in human very-low-density lipoprotein // Biosci. Biotechnol. // Biochem. — 2003. — Vol. 67 (2). — P. 402–405.
66. Urano S., Kitahara M., Kato Y. et al. Membrane stabilizing effect of vitamin E: existence of a hydrogen bond between alpha-tocopherol and phospholipids in bilayer liposomes // J. Nutr. Sci. Vitaminol. — 1990. — Vol. 36 (6). — P. 513–519.
67. Kagan V. E. Tocopherol stabilizes membrane against phospholipase A, free acids and phospholipids // Ann. N. Y. Acad. Sci. — 1989. — Vol. 570 (1). — P. 121–135.
68. Kanno T., Yorimitsu M., Muranaka S. et al. Role of  $\alpha$ -tocopherol in the regulation of mitochondrial membrane permeability transition // J. Clin. Biochem. Nutr. — 2004. — Vol. 35 (1). — P. 7–15.
69. Kwang O. G., Kim S. O., Choi J. H. et al. Vitamin E improves microsomal phospholipase A2 activity and the arachidonic acid cascade in kidney of diabetic rats // J. Nutr. — 2001. — Vol. 131 (4). — P. 1297–1301.
70. Rhee S. J., Jeong Y. C., Choi J. H. Effects of vitamin E on phospholipase A2 activity and oxidative damage to the liver streptozotocin-induced diabetic rats // Ann. Nutr. Metab. — 2005. — Vol. 49 (6). — P. 329–396.
71. Lee A. G. How lipids affect the activities of integral membrane proteins // Biochim. Biophys. Acta. — 2004. — Vol. 1666 (1-2). — P. 62–87.
72. Lee A. G. Lipid-protein interactions // Biochem. Soc. Trans. — 2011. — Vol. 39 (3). — P. 761–766.
73. Machlin L. J. Vitamin E: comprehensive treatise. — N. Y.: M. Dekker, 1980. — 660 p.
74. Buettner G. R. The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, alpha-tocopherol, and ascorbate // Arch. Biochem. Biophys. — 1993. — Vol. 300 (2). — P. 535–543.
75. Музил Я., Новакова О., Куниц К. Современная биохимия в схемах. — М.: Мир, 1984. 216с.
76. Van Lieshout M., West C. E., van Breemen R. B. Isotopic tracer techniques for studying the bioavailability and bioefficacy of dietary carotenoids, particularly beta-carotene, in humans: a review // Am. J. Clin. Nutr. — 2003. — Vol. 77 (1). — P. 12–28.
77. Iannone A., Rota C., Bergamini S. et al. Antioxidant activity of carotenoids: an electron-spin resonance study on beta-carotene and lutein interaction with free radicals generated in a chemical system // J. Biochem. Mol. Toxicol. — 1998. — Vol. 12 (5). — P. 299–304.
78. Rice-Evans C. A., Sampson J., Bramley P. M., Holloway D. E. Why do we expect carotenoids to be antioxidants *in vivo*? Free // Rad. Res. — 1997. — Vol. 26 (4). — P. 381–398.

79. *Perez-Rodriguez L.* Carotenoids in evolutionary ecology: re-evaluating the antioxidant role // *Bioessays*. — 2009. — Vol. 31 (10). — P. 1116–1126.
80. *Worcester D. L., Franks N. P.* Structural analysis of hydrated egg lecithin and cholesterol bilayers. II. Neutron diffraction // *J. Mol. Biol.* — 1976. — Vol. 100 (3). — P. 359–378.
81. *Crockett E. L.* Cholesterol function in plasma membranes from ectotherms. — P. membrane-specific roles in adaptation to temperature // *Am. Zoologist*. — 1998. — Vol. 38 (2). — P. 291–304.
82. *Smith L. L.* Another cholesterol hypothesis: cholesterol as antioxidant // *Free Radic. Biol. Med.* — 1991. — Vol. 11 (1). — P. 47–61.
83. *Parasassi T., Giusti A. M., Raimondi M.* et al. Cholesterol protects the phospholipid bilayer from oxidative damage // *Free Rad. Biol. Med.* — 1995. — Vol. 19 (4). — P. 511–516.
84. *Stillwell W., Dallman T., Dumaual A. C.* et al. Cholesterol versus alpha-tocopherol: effects on properties of bilayer made from heteroacidic phosphatidylcholines // *Biochemistry*. — 1996. — Vol. 35 (41). — P. 13353–13362.
85. *Гринштейн Б., Гринштейн А.* Наглядная биохимия. — М.: Гэотар медицина, 2000. — 119 с.
86. *Prats M., Tocanne J. F., Teissie J.* Lateral proton conduction at a lipid/water interface. Effect of lipid nature and ionic content of the aqueous phase // *Eur. J. Biochem.* — 1987. — Vol. 162 (2). — P. 379–385.
87. *Gutknecht J.* Proton/hydroxide conductance through lipid bilayer membranes // *J. Membrane Biol.* — 1984. — Vol. 82 (1). — P. 105–112.
88. *Amengual J., Lobo G. P., Golczak M.* et al. A mitochondrial enzyme degrades carotenoids protects against oxidative stress // *FASEB J.* — 2010. — Vol. 25 (3). — P. 948–959.
89. *Urano S., Inomori Y., Sugawara T.* Vitamin E: inhibition of retinol-induced hemolysis and membrane stabilizing behavior // *J. Biol. Chem.* — 1992. — Vol. 267 (26). — P. 18365–18370.
90. *Traber M. G., Packer L.* Vitamin E: beyond antioxidant function // *Am. J. Clin. Nutr.* — 1995. — Vol. 62 (6). — P. 1501S–1509S.
91. *Engin K. N.* Alpha-tocopherol: looking beyond an antioxidant // *Mol. Vis.* — 2009. — Vol. 15. — P. 855–860.
92. *Mahoney C. W., Azzi A.* Vitamin E inhibits protein kinase C activity // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 1988. — Vol. 154 (2). — P. 694–697.
93. *Azzi A., Gysin R., Kempna P.* et al. Vitamin E mediates cell signaling and regulation of gene expression // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* — 2004. — Vol. 1031 (1). — P. 86–95.
94. *Zung J. M., Azzi A.* Non-antioxidant activities of vitamin E // *Curr. Med. Chem.* — 2004. — Vol. 11 (9). — P. 1113–1133.
95. *Azzi A.* Molecular mechanisms of alpha-tocopherol action // *Free Rad. Biol. Med.* — 2007. — Vol. 43 (1). — P. 16–21.
96. *Azzi A., Stocher A.* Vitamin E: non antioxidant roles // *Prog. Lipid Res.* — 2000. — Vol. 39 (3). — P. 231–255.
97. *Rimbach G., Minihane A. M., Majewicz E.* et al. Regulation of cell signaling by vitamin E // *Proc. Nutr. Soc.* — 2002. — Vol. 61 (4). — P. 415–425.
98. *Barella L., Muller P. Y., Schlachter M.* et al. Identification of hepatic molecular mechanisms of action of alpha-tocopherol using global gene expression profile analysis in rats // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2004. — Vol. 1689 (1). — P. 66–74.

99. Esau C., Davis S., Murray S. F. et al. miR-122 regulation of lipid metabolism revealed by In vivo antisense targeting // *Cell. Metab.* – 2006. – Vol. 3 (2). – P. 87–98.
100. Ozen M., Creighton C. J., Ozdemir M., Ittmann M. Widespread deregulation of microRNA expression in human prostate cancer // *Oncogene.* – 2008. – Vol. 27 (12). – P. 1788–1793.
101. Sonkoly E., Wei T., Janson P. C. et al. MicroRNAs: novel regulators involved in the pathogenesis of psoriasis? // *PLoS One.* – 2007. – Vol. 2. – P. e610.
102. Rimbach G., Moehring J., Huebbe P., Lodge J. K. Gene-regulatory activity of  $\alpha$ -tocopherol // *Molecules.* – 2010. – Vol. 15 (3). – P. 1746–1761.
103. Lewis B. P., Burge C. B., Bartel D. P. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets // *Cell.* – 2005. – Vol. 120 (1). – P. 15–20.
104. Boyd S. D. Everything you wanted to know about small RNA but were afraid to ask // *Lab. Invest.* – 2008. – Vol. 88 (6). – P. 569–578.
105. Til E., Michaille J. J., Cimino A. et al. Modulation of miR-155 and miR-125b levels following lipopolysaccharide/TNF-alpha stimulation and their possible roles in regulating the response to endotoxin shock // *J. Immunol.* – 2007. – Vol. 179 (8). – P. 5082–5089.
106. Lim Y., Vasu V. T., Valacchi G. et al. Severe vitamin E deficiency modulates airway allergic inflammatory responses in the murine asthma model *Free // Radic. Res.* – 2008. – Vol. 42 (4). – P. 387–396.
107. Yamaoka S., Kim H. S., Ogihara T. et al. Severe vitamin E deficiency exacerbates acute hyperoxic lung injury associated with increased oxidative stress and inflammation *Free // Radic. Res.* – 2008. – Vol. 42 (6). – P. 602–612.
108. Li C., Li R. W., Elsasser T. H. Alpha-tocopherol modulates transcriptional activities that affect essential biological processes in bovine cells // *Gene Regul. Syst. Biol.* – 2010. – Vol. 4 (4). – P. 109–124.
109. Gaedicke S., Zhang X., Schmelzer C. et al. Vitamin E dependent microRNA regulation in rat liver // *FEBS Lett.* – 2008. – Vol. 582 (23–24). – P. 354–346.
110. Ефремов В. В., Авакумов В. М. Аскорбиновая кислота. БМЭ. – М.: Советская энциклопедия, 1975. – Т. 2. – P. 783–787.
111. Meister A. Glutathione-ascorbic acid antioxidant system in animals // *J. Biol. Chem.* – 1994. – Vol. 269 (13). – P. 9397–9400.
112. Gropper S. S., Smith J. L., Grodd J. L. Advanced nutrition and human metabolism. – 4<sup>th</sup> ed. – Belmont, CA: Thomson Wadsworth, 2004. – P. 260–275.
113. Buettner G. R. The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, alpha-tocopherol, and ascorbate // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1993. – Vol. 300 (2). – P. 535–543.
114. Halliwell B. Vitamin C: poison, prophylactic or panacea? // *Trends Biochem. Sci.* – 1999. – Vol. 24 (7). – P. 255–259.
115. Carr A., Frei B. Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions? // *FASEB J.* – 1999. – Vol. 13 (9). – P. 1007–1024.
116. Padayatty S. J., Katz A., Wang Y. et al. Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention // *J. Am. Coll. Nutr.* – 2003. – Vol. 22 (1). – P. 18–35.
117. Valko M., Morris H., Cronin M. T. D. Metals, toxicity and oxidative stress // *Curr. Med. Chem.* – 2005. – Vol. 12 (10). – P. 1161–1208.
118. Fisher A. E. O., Naughton D. P. Vitamin C contributes to inflammation via radical generating mechanisms: a cautionary note // *Med. Hypotheses.* – 2003. – Vol. 61 (5–6). – P. 657–660.

119. *Harris J. W.* Ascorbic acid: biochemistry and biomedical cell biology. – N. Y.: Plenum Press, 1996. – 435 p.
120. *Ohta Y., Nishikimi M.* Random nucleotide substitutions in primate non-functional gene for L-gulonogamma-lactone oxidase, the missing enzyme in L-ascorbic acid biosynthesis // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1999. – Vol. 1472 (1-2). – P. 408-411.
121. *Hodges R. E., Baker E. M., Hood J.* et al. Experimental scurvy in man // *Am. J. Nutr.* – 1969. – Vol. 22 (5). – P. 535-548.
122. *Hodges R. E., Hood J., Canham J. E.* et al. Clinical manifestations of ascorbic acid deficiency in man // *Am. J. Clin. Nutr.* – 1971. – Vol. 24 (4). – P. 432-443.
123. *Peterkofsky B.* Ascorbate requirement for hydroxylation and secretion of procollagen: relationship to inhibition of collagen synthesis in scurvy // *Am. J. Clin. Nutr.* – 1991. – Vol. 54 (6). – P. 1135S-1140S.
124. *Prockop D. J., Kivirikko K. I.* Collagens: molecular biology, disease, and potentials for therapy // *Annu. Rev. Biochem.* – 1995. – Vol. 64. – P. 403-434.
125. *Rebouche C. J.* Ascorbic acid and carnitine biosynthesis // *Am. J. Clin. Nutr.* – 1991. – Vol. 54 (6). – P. 1147S-1152S.
126. *Levine M., Dhariwal K. R., Washko P.* et al. Ascorbic acid and reaction kinetics *in situ*. – P. a new approach to vitamin requirements // *J. Nutr. Sci. Vit.* – 1992. – Vol. Spec. – P. 169-172.
127. *Kaufman S.* Dopamine-beta-hydroxylase // *J. Psychiatr. Res.* – 1974. – Vol. 11. – P. 303-316.
128. *Fransson L. A., Mani K.* Novel aspects of vitamin C: how important is glypican-1 recycling // *Trends Mol. Med.* – 2007. – Vol. 13 (4). – P. 143-149.
129. *David G., Lories V., Decock B.* et al. Molecular cloning of a phosphatidylinositol-anchored membrane heparin sulfate proteoglycan from human lung fibroblasts // *J. Cell. Biol.* – 1991. – Vol. (6 Pt2). – P. 3165-3176.
130. *Duarte T. L., Lunec J.* When is an antioxidant not an antioxidant? A review of novel actions and reactions of vitamin C Free // *Radic. Res.* – 2005. – Vol. 39 (7). – P. 671-686.
131. *Levine M., Espey M. G., Paddayatty S. J.* Vitamin C: a concentration-function approach yields pharmacology and therapeutic discoveries // *Adv. Nutr.* – 2011. – Vol. 2 (2). – P. 78-98.
132. *McGregor G. P., Biesalski H. K.* Rationale and impact of vitamin C in clinical nutrition // *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* – 2006. – Vol. 9 (6). – P. 697-703.
133. *Abdollahzad H., Eghtesadi S., Nourmohammadi I.* et al. Effect of vitamin C supplementation on oxidative stress and lipid profiles in hemodialysis patients // *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* – 2009. – Vol. 79 (5-6). – P. 281-287.
134. *Fukushima R., Yamazaki E.* Vitamin C requirement in surgical patients // *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* – 2010. – Vol. 13 (6). – P. 669-676.
135. *Sies H.* Glutathione and its role in cellular functions // *Free Radic. Biol. Med.* – 1999. – Vol. 27 (9-10). – P. 916-921.
136. *Forman H. J., Dickinson D. A.* Oxidative signaling and glutathione synthesis // *Biofactors.* – 2003. – Vol. 17 (1-4). – P. 1-12.
137. *Meister A.* Glutathione metabolism and its selective modification // *J. Biol. Chem.* – 1988. – Vol. 263 (33). – P. 17205-17208.
138. *Lu S. C.* Regulation of hepatic glutathione synthesis: current concepts and controversies // *FASEB J.* – 1999. – Vol. 13 (10). – P. 1169-1183.

139. Hughes R. E. Reduction of dehydroascorbic acid by animal tissues // *Nature*. – 1964. – Vol. 203 (4949). – P. 1068–1069.
140. Scholz R. W., Graham K. S., Gumprich E., Reddy C. C. Mechanism of interaction of vitamin E and glutathione in the protection against membrane lipid oxidation // *Annu. N. Y. Acad. Sci.* – 1989. – Vol. 570 (1). – P. 514–517.
141. Moore A. N. J., Ingold K. U. Alpha-tocopherol quinone is converted into vitamin E in man // *Free. Radic. Biol. Med.* – 1997. – Vol. 22 (15). – P. 931–934.
142. Cotgreave I. A., Cotgreave R. G. Recent trends in glutathione biochemistry: glutathione-protein interactions: a molecular link between oxidative stress and cell proliferation? // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1998. – Vol. 242 (1). – P. 1–9.
143. Ghezzi P., Bonetto V., Fratelli M. Thiol-disulfide balance: from the concept of oxidative stress to that of redox regulation // *Antioxid. Redox Signal.* – 2005. – Vol. 7 (7–8). – P. 964–972.
144. Van Haafte R. I., Evelo C. T., Haenen G. R., Bast A. No reduction of alpha-tocopherol quinone by glutathione in rat liver microsomes // *Biochemical Pharmacology*. – 2001. – Vol. 61. – P. 715–719.
145. Chan A. C. Partners in defense, vitamin E and vitamin C // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* – 1993. – Vol. 71 (9). – P. 725–731.
146. Canals S., Casarejos M. J., de Bernardo S. et al. Glutathione depletion switches nitric oxide neurotrophic effects to cell death in midbrain cultures: implications for Parkinson's disease // *J. Neurochem.* – 2001. – Vol. 79 (6). – P. 1183–1195.
147. Chiueh C. C., Rauhala P. The redox pathway of S-nitrosoglutathione, glutathione and nitric oxide in cell to neuron communication // *Free // Radic. Res.* – 1999. – Vol. 31 (6). – P. 641–650.
148. Lertratanangkoom K., Savaraj N., Scimeca J. M., Thomas M. L. Glutathione depletion-induced thymidilate insufficiency for DNA repair synthesis // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1997. – Vol. 234 (2). – P. 470–475.
149. Edgren M., Pevesz L. Glutathione requirement for the rejoining of radiation-induced DNA breaks in misonidazole-treated cells // *Int. J. Rad. Biol.* – 1985. – Vol. 48 (2). – P. 207–212.
150. Young J. D., Ellory J. C., Tucker E. M. Amino acid transport in normal and glutathione-deficient sheep erythrocytes // *Biochem. J.* – 1976. – Vol. 154 (1). – P. 43–48.
151. Griffith O. W., Bridgers R. J., Meister A. Transport of gamma-glutamyl transpeptidase // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1989. – Vol. 76 (12). – P. 6319–6322.
152. Jakobsson P. J., Thoren S., Morgenstern R., Samuelsson B. Identification of human prostaglandin E synthase: a microsomal, glutathione-dependent, inducible enzyme, constituting a potential novel drug target // *Ptoci. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1999. – Vol. 96 (13). – P. 7220–7225.
153. Dalle-Donne I., Rossi R., Guistarini D. et al. S-glutathionylation in protein redox regulation // *Free Radic. Biol. Med.* – 2007. – Vol. 43 (6). – P. 883–898.
154. Keppler D. Export pumps for glutathione S-conjugates // *Free Radic. Biol. Med.* – 1999. – Vol. 27 (9–10). – P. 985–991.
155. Ernst V., Levin D. H., London I. M. Inhibition of protein synthesis initiation by oxidized glutathione: activation of a protein kinase that phosphorylates the  $\alpha$  subunit of eukaryotic initiation factor 2 // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1978. – Vol. 75 (9). – P. 4110–4114.
156. Hayes J. D., Pulford D. J. The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance // *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* – 1995. – Vol. 30 (6). – P. 445–600.

157. Meyer A. J. The integration of glutathione homeostasis and redox signaling // *J. Plant. Physiol.* — 2008. — Vol. 165 (13). — P. 1390-1403.
158. Kosower N. S., Kosower E. M. The glutathione status of cells // *Int. Rev. Cytol.* — 1978. — Vol. 54. — P. 109-160.
159. Rossi R., Mizani A., Dalle-Donne I. et al. Blood glutathione disulfide: in vivo factor or in vitro artifact? // *Clin. Chem.* — 2002. — Vol. 48. — P. 742-753.
160. Rahman I., Adcock I. M. Oxidative stress and redox regulation of lung inflammation in COPD // *Eur. Respir. J.* — 2006. — Vol. 28 (1). — P. 219-242.
161. Arnhold J., Hammerschmidt S., Arnold K. Role of functional groups of human plasma and luminol in scavenging of NaOCl and neutrophil-derived hypochlorous acid // *Biochim. Biophys. Acta.* — 1991. — Vol. 1097 (2). — P. 145-151.
162. Jones D. P. Redefining oxidative stress // *Antioxid. Redox Signal.* — 2006. — Vol. 8 (9-10). — P. 1865-1879.
163. Соколовский В. В. Тиоловые антиоксиданты в молекулярных механизмах неспецифической реакции организма на экстремальные воздействия // *Вопр. мед. химии.* — 1988. — № 34 (6). — С. 2-11.
164. Asensi M., Sastre J., Pallardo F. V. et al. Ratio of reduced to oxidized glutathione as indicator of oxidative stress status and DNA damage // *Methods Enzymol.* — 1999. — Vol. 299. — P. 267-276.
165. Filomeni G., Rotilio G., Ciriolo M. R. Glutathione disulfide induces apoptosis in U937 cells by a redox-mediated p38 mitogen-activated protein kinase pathway // *FASEB J.* — 2002. — Vol. 17 (1). — P. 64-66.
166. Townsend D. M., Tew K. D., Tapiero H. The importance of glutathione in human disease // *Biomed. Pharmacother.* — 2003. — Vol. 57 (3-4). — P. 145-155.
167. Matsuzawa A., Ichijo H. Redox control of cell fate by MAP kinase: physiological roles of ASK1-MAP kinase pathway in stress signaling // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2008. — Vol. 1780 (11). — P. 1325-1336.
168. Nemeth I., Boda D. Blood glutathione redox ratio as a parameter of oxidative stress in premature infants with IRDS // *Free Radic. Biol. Med.* — 1994. — Vol. 16 (3). — P. 347-353.
169. Fraternali A., Paoletti M. F., Casabianca A. et al. GSH and analogs in antiviral therapy // *Mol. Aspects Med.* — 2009. — Vol. 30 (1-2). — P. 99-110.
170. Mullineaux P., Creissen G. P. Glutathione reductase: regulation and role in oxidative stress: Oxidative stress and the molecular biology of antioxidant defenses J. Scandalios (ed.). — N. Y.: Cold Spring Harbor Lab. Press, 1997. — P. 667-713.
171. Harvey C. L., Thimmulappa R. K., Singh A. et al. Nrf2-regulated glutathione recycling independent of biosynthesis is critical for survival during oxidative stress // *Free Radic. Biol. Med.* — 2008. — Vol. 46 (4). — P. 443-453.
172. Meister A., Anderson M. E. Glutathione // *Annu. Rev. Biochem.* — 1983. — Vol. 52 (3). — P. 711-760.
173. Меньщикова Е. Б., Зенков Н. К. Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процессов // *Успехи совр. биол.* — 1997. — № 117 (2). — С. 155-171.
174. Тиунов Л. А., Иванова В. А. Роль глутатиона в процессах детоксикации // *Вестн. АМН СССР.* — 1988. — № 1. — С. 62-69.
175. Csala M., Fulceri R., Mandl J. et al. Glutathione transport in the endo/sarcoplasmic reticulum // *BioFactors.* — 2003. — Vol. 17 (1-4). — P. 27-35.
176. Rahman I. The role of oxidative stress in the pathogenesis of COPD: implication for therapy // *Treat. Respir. Med.* — 2005. — Vol. 4 (4). — P. 175-200.



177. *Anderson M. E.* Glutathione: an overview of biosynthesis and modulation // *Chem. Biol. Interact.* — 1998. — Vol. 111–112. — P. 1–14.
178. *Hung C. S., Chang L. S., Anderson M. E., Meister A.* Catalytic and regulatory properties of the heavy subunit of rat kidney  $\gamma$ -glutamylcysteine synthetase // *J. Biol. Chem.* — 1993. — Vol. 268 (26). — P. 19675–19680.
179. *Griffith O. W.* Biologic and pharmacologic regulation of mammalian glutathione synthesis // *Free Radic. Biol. Med.* — 1999. — Vol. 27 (9–10). — P. 922–935.
180. *Osman L. P., Mitchell S. C., Waring R. H.* Cysteine, its metabolism and toxicity // *Sulfur Reports.* — 1997. — Vol. 20 (2). — P. 155–172.
181. *Stepanuk M. H.* Sulfur amino acid metabolism: pathways for production and removal of homocysteine and cysteine // *Annu. Rev. Nutr.* — 2004. — Vol. 24. — P. 539–577.
182. *Bauchart-Thevet C., Stoll B., Burrin D. G.* Intestinal metabolism of sulfur amino acids // *Nutr. Res. Rev.* — 2009. — Vol. 22 (2). — P. 175–187.
183. *Stipanuk M. H., Ueki I.* Dealing with methionine/homocysteine sulfur: cysteine metabolism to taurine and inorganic sulfur // *J. Inherit. Metab. Dis.* — 2011. — Vol. 34 (1). — P. 17–32.
184. *Borgstrom L., Kagedal B., Paulsen O.* Pharmacokinetics of N-acetylcysteine in man // *Eur. J. Clin. Pharm.* — 1986. — Vol. 31 (2). — P. 217–222.
185. *Smilkstein M. J., Knapp G. I., Kulig K. W., Rumack B. H.* Efficacy of oral N-acetylcysteine in the treatment of acetaminophen overdose. Analysis of the national multicenter study (1976 to 1985) // *N. Engl. J. Med.* — 1988. — Vol. 319 (24). — P. 1557–1562.
186. *Dilger R. N., Baker D. H.* Oral N-acetyl-L-cysteine is a safe and effective precursor of cysteine // *J. Anim. Sci.* — 2007. — Vol. 85 (7). — P. 1712–1718.
187. *Holdiness M. R.* Clinical pharmacokinetics of N-acetylcysteine // *Clin. Pharmacokinet.* — 1991. — Vol. 20 (2). — P. 123–134.
188. *Atkins K. B., Lodhi I. J., Hurley L. L., Hinshaw D. B.* N-acetylcysteine and endothelial cell injury by sulfur mustard // *J. Appl. Toxicol.* — 2000. — Vol. 20 (1). — P. S125–S128.
189. *Kasielski M., Nowak D.* Long-term administration of N-acetylcysteine decreases hydrogen peroxide exhalation in subjects with chronic obstructive pulmonary disease // *Resp. Med.* — 2001. — Vol. 95 (6). — P. 448–456.
190. *De Flora S., Bennicelli C., Camoirano A.* et al. *In vivo* effects of N-acetylcysteine on glutathione metabolism and on biotransformation of carcinogenic and/or mutagenic compounds // *Carcinogenesis.* — 1985. — Vol. 6 (12). — P. 1735–1745.
191. *Wienander A., Anderson C., Morgenstern R.* Identification of N-acetylcysteine as a new substrate for rat liver microsomal glutathione transferase: a study of thiol ligands // *J. Biol. Chem.* — 1994. — Vol. 269 (1). — P. 71–76.
192. *Kelly G. S.* Clinical applications of N-acetylcysteine // *Alter. Med. Rev.* — 1998. — Vol. 3 (2). — P. 114–127.
193. *Millea P. J.* N-acetylcysteine: multiple clinical applications // *Am. Fam. Physician.* — 2009. — Vol. 80 (3). — P. 265–269.
194. *Packer L., Witt E. H., Tritschler H. J.* Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant // *Free Radic. Biol. Med.* — 1995. — Vol. 19 (2). — P. 227–250.
195. *Smith A. R., Shenvi S. V., Widlansky M.* et al. Lipoic acid as a potential therapy for chronic diseases associated with oxidative stress // *Cur. Med. Chem.* — 2004. — Vol. 11 (9). — P. 1135–1146.
196. *Hagen T. M., Ingersoll R. T., Lykkesfeldt J.* et al. (R)- $\alpha$ -lipoic acid-supplemented old rats have improved mitochondrial function, decreased oxidative damage, and increased metabolic rate // *FASEB J.* — 1999. — Vol. 13 (2). — P. 411–418.

197. Jones W., Li X., Qu Z. C. et al. Uptake, recycling, and antioxidant action of  $\alpha$ -lipoic acid in endothelial cells // *Free Radic. Biol. Med.* – 2002. – Vol. 33 (1). – P. 83–93.
198. Teichert J., Preiss R. HPLC-methods for determination of lipoic acid and its reduced form in human plasma // *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.* – 1992. – Vol. 30 (11). – P. 511–512.
199. Biewenga G. P., Haenen C. R., Bast A. The pharmacology of the antioxidant lipoic acid // *Gen. Pharmacol.* – 1997. – Vol. 29 (3). – P. 315–331.
200. Sumathi R., Baskaran G., Varalakshmi P. Relationship between glutathione and DL alpha-lipoic acid against cadmium-induced hepatotoxicity // *Jpn. J. Med. Sci. Biol.* – 1996. – Vol. 49 (2). – P. 39–48.
201. Patrick L. Mercury toxicity and antioxidants: Part I.: Role of glutathione and alpha-lipoic acid in the treatment of mercury toxicity // *Alt. Med. Rev.* – 2002. – Vol. 7 (6). – P. 456–471.
202. Kagan V. E., Shvedova A., Serbinova E. et al. Dihydrolipoic acid – an universal antioxidant both in the membrane and in the aqueous phase. Reduction of peroxy, ascorbyl and chromanoxyl radicals // *Biochem. Pharmacol.* – 1992. – Vol. 44 (8). – P. 1637–1649.
203. Kozlov A. V., Gille L., Staniek K., Nohl H. Dihydrolipoic acid maintains ubiquinone in the antioxidant active form by two-electron reduction of ubiquinone and one-electron reduction of ubisemiquinone // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1993. – Vol. 363 (1). – P. 148–154.
204. Bast A., Haenen G. R. Lipoic acid: a multifunctional antioxidant // *Biofactors.* – 2003. – Vol. 17 (1–4). – P. 207–213.
205. Suh J. H., Zhu B. Z., de Szoeko E. et al. Dihydrolipoic acid lowers the redox activity of transition metal ions but does not remove them from the active site of enzymes // *Redox Rep.* – 2004. – Vol. 9 (1). – P. 57–61.
206. Baraboi V. A. Alpha-lipoic-dihydrolipoic acid-active bioantioxidant and bioregulatory system // *Ukr. Biokhim. Zh.* – 2005. – Vol. 77 (3). – P. 20–26.
207. Bilaska A., Wlodek L. Lipoic acid – the drug of the future? // *Pharmacol. Rep.* – 2005. – Vol. 57 (5). – P. 570–577.
208. Lee J., Koo N., Min D. B. Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals // *CRFSFS.* – 2004. – Vol. 3 (1). – P. 21–33.
209. Suh J. H., Shenvi S. V., Dixon B. M. et al. Decline in transcriptional activity of Nrf2 causes age-related loss of glutathione synthesis, which is reversible with lipoic acid // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2004. – Vol. 101 (10). – P. 3381–3386.
210. Alleva R., Nasole E., Di Donato R. et al.  $\alpha$ -Lipoic acid supplementation inhibits oxidative damage, accelerating chronic wound healing in patients undergoing hyperbaric oxygen therapy // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2005. – Vol. 333 (2). – P. 404–410.
211. Sigel H., Prijs B., McCormick D. B., Shih J. C. Stability and structure of binary and ternary complexes of  $\alpha$ -lipoate and lipoate derivatives with  $Mn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ , and  $Zn^{2+}$  in solution // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1978. – Vol. 187 (1). – P. 208–214.
212. Gregus Z., Stein A. F., Varga F., Klaassen C. D. Effect of lipoic acid on biliary excretion of glutathione and metals // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 1992. – Vol. 114 (1). – P. 88–96.
213. Suh J. H., Moreau R., Heath S. H., Hagen T. M. Dietary supplementation with (R)-alpha-lipoic acid reverses the age-related accumulation of iron and depletion of antioxidants in the rat cerebral cortex // *Redox Rep.* – 2005. – Vol. 10 (1). – P. 52–60.

214. *Islam M. T.* Antioxidant activities of dithiol alpha-lipoic acid // *Bengladesh J. Med. Sci.* – 2009. – Vol. 8 (3). – P. 46–51.
215. *Ghibu S., Richard C., Vergele C.* et al. Antioxidant properties of an endogenous thiol: alpha-lipoic acid, useful in the prevention of cardiovascular diseases // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* – 2009. – Vol. 54 (5). – P. 391–398.
216. *Goraca A., Huk-Kolega H., Piechota A.* et al. Lipoic acid – biological activity and therapeutic potential // *Pharmacol. Rep.* – 2011. – Vol. 63 (4). – P. 849–858.
217. *Ross S. M.* Clinical applications of lipoic acid in type II diabetes mellitus // *Holist. Nurs. Pract.* – 2006. – Vol. 20 (6). – P. 305–306.
218. *Carreau J. P.* Biosynthesis of lipoic acid via unsaturated fatty acids // *Meth. Enzymol.* – 1979. – Vol. 62. – P. 152–158.
219. *Машковский М. Д.* Унитиол // *Лекарственные средства.* – М.: Новая волна, 2005. – С. 748.
220. *Глотова Л. Г.* Лечебные и антидотные свойства унитиола // *Фарм. журнал.* – Киев. – 1980. – № 1. – С. 18–22.
221. *Benov L. C., Benchev I. C., Monovich O. H.* Thiol antidotes effect on lipid peroxidation in mercury-poisoned rats // *Chem. Biol. Interact.* – 1990. – Vol. 76 (3). – P. 321–332.
222. *Зайцев В. Г., Островский О. В., Закревский В. И.* Антиоксидантное и прооксидантное действие химических соединений в модельной системе в условиях длительного протекания процесса перекисного окисления липидов // *Сб. тр. научн.-практ. конф. Свободные радикалы, антиоксиданты и болезни человека.* – Смоленск, 2001. – С. 30–32.
223. *Зенович С. М.* Протекторные свойства унитиола при экспериментальной наркотической и алкогольной интоксикации: Дис. ... канд. биол. наук. – М., 2004. – 107 с.
224. *Бакулина Л. С.* Фармакологическая коррекция проявлений оксидативного стресса при гнойно-воспалительных заболеваниях среднего уха (клинико-экспериментальное исследование): Дис. ... д-ра мед. наук. – СПб., 2002. – 259 с.
225. *Бакулина Л. С., Плужников Н. Н., Чепур С. В.* Способ лечения острого гнойного среднего отита. Патент РФ 2167638.
226. Регистр лекарственных средств России – энциклопедия лекарств. – 8-е изд. – М.: РЛС, 2001. – 1504 с.
227. *Некрасов Б. В.* Курс общей химии. – М., 1935. – Т. 1. – 388 с.
228. *Полинг Л.* Общая химия. – М.: Мир, 1974. – 846 с.
229. *Машковский М. Д.* Натрия тиосульфат // *Лекарственные средства.* – М.: Новая волна, 2005. – С. 749.
230. *Шарипов В. Н.* Применение тиосульфата натрия в комплексном лечении туберкулеза женских половых органов // *Мед. журн. Узбекистана.* – 1984. – № 7. – P. 43–44.
231. *Донченко Е. В., Кирсанов А. И.* Использование натрия тиосульфата как антиоксиданта в лечении ИБС у больных опухолями челюстно-лицевой области // *Сб. тез. докл. IV конф. «Биоантиоксидант».* – М., 1993. – Т. 2. – С. 137–138.
232. *Симоворян П. С., Багдасарян Э. С.* Тиосульфат натрия – эффективный антиоксидант при панкреатитах // *Сб. тез. III конф. «Биоантиоксидант».* – М., 1989. – Т. 2. – С. 99.
233. *Кульчавеня Е. В.* Фтизиоурология // *Низкоинтенсивная лазерная терапия / Под ред. С. В. Москвина, В. А. Буйлина.* – М., 2000. – С. 423–451.

234. Karagyozyan M. K. Sodium thiosulfate as an effective antioxidant substance at experimental mycotoxin zearalenon poisoning // *J. Neurochem.* — 2002. — Vol. 81 (1). — P. 101-105.
235. Dickey D. T., Wu Y. J., Muldoon L. L., Neuwelt E. A. Protection against cisplatin-induced toxicity by n-acetylcysteine and sodium thiosulfate as assessed at the molecular, cellular, and *In vivo* levels // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* — 2005. — Vol. 314 (3). — P. 1052-1058.
236. Bielefeld E. C. Mechanisms of cisplatin ototoxicity and routes for intervention // *Persp. Hear. Hear. Disord. Res. Diagn.* — 2011. — Vol. 15 (1). — P. 3-4.
237. Волкотруб Л. П., Андропова Т. В. Роль селена в развитии и предупреждении заболеваний // *Гигиена и санитария.* — 2001. — № 3. — С. 57-61.
238. Новиков Ю. В., Плитман С. И., Секлетина Н. И., Ноаров Ю. А. Селен в воде и его влияние на организм // *Гигиена и санитария.* — 1984. — № 9. — С. 66-68.
239. Deelstra H. Selenium et cancer. La situation en Belgique // *Med. Biol. Environ.* — 1982. — Vol. 10 (2). — P. 35-36.
240. Sundstrom H., Yrjankeikki E., Kauppila A. Serum selenium in patients with ovarian cancer during and after therapy // *Cancerogenesis.* — 1984. — Vol. 5 (6). — P. 731-734.
241. Clark L., Graham G., Crounser R. et al. Plasma selenium and skin neoplasma: a case-control study // *Nutr. Cancer.* — 1985. — Vol. 6 (1). — P. 13-21.
242. Foster L. H., Sumar S. Selenium in health and disease // *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* — 1997. — Vol. 37 (3). — P. 211-228.
243. Ray A. L., Semba R. D., Walston J. et al. Low serum selenium and total carotenoids predict mortality among older women living in the community: the women's health and aging studies // *J. Nutr.* — 2006. — Vol. 136 (1). — P. 172-176.
244. McCann J. C., Ames B. N. Adaptive dysfunction of selenoproteins from the perspective of the triage theory: why modest selenium deficiency may increase risk of disease of aging // *FASEB J.* — 2011. — Vol. 25 (6). — P. 1793-1814.
245. Park K., Rimm E., Siscovick D. et al. Demographic and lifestyle factors and selenium levels in men and women in the U.S // *Nutr. Res. Pract.* — 2011. — Vol. 5 (4). — P. 357-364.
246. Иванов В. Н., Никитина Л. П., Вощенко А. В. Экологозависимые состояния (биохимия, фармакология, клиника) // Сб. тез. докл. Всеросс. научн.-практ. конф. — Чита, 1998. — С. 45-56.
247. Fleet J. C. Dietary selenium repletion may reduce cancer incidence in people at high risk who live in areas with low soil selenium // *Nutr. Rev.* — 1997. — Vol. 35 (7). — P. 277-279.
248. Lippman S. M., Klein E. A., Goodman P. J. et al. Effect selenium and vitamin E on risk of prostate cancer and other cancers // *JAMA.* — 2009. — Vol. 301 (1). — P. 39-51.
249. Аптекарь С. Г. Фактор 3 и селен. (Обзор литературы) // *Вопр. питания.* — 1963. — Vol. 22 (1). — P. 83-86.
250. Воронцов И. М. Педиатрические аспекты пищевого обеспечения женщин при подготовке к беременности и при ее врачебном мониторинге // *Педиатрия.* — 1999. — № 5. — С. 87-92.
251. Forman H. J., Rotman E. J., Fisher A. B. Roles of selenium and sulfur-containing amino acids in protection against oxygen toxicity // *Lab. Invest.* — 1983. — Vol. 49 (2). — P. 148-153.
252. Tolonen M., Halme M., Sarna S. Vitamin E and selenium supplementation in geriatric patients. A double-blind preliminary clinical trial // *Biol. Trace Elem. Res.* — 1987. — Vol. 7 (3). — P. 161-168.

253. Sies H., Akerboom T., Ishikawa T. et al. Hepatic and cardiac hydroperoxide metabolism. Role of selenium Selenium in biology and medicine / Combs G. F., Spallholtz J. E., Levander O. A., Oldfield J. E. (eds.). – N. Y.: Van Nostrand Reinhold, 1987. – P. 104–114.

254. Гусейнов Г. М., Насибов Э. М., Джафаров А. И. Участие селена в регуляции перекисного окисления липидов биомембран и активность глутатионпероксидазы // Биохимия. – 1990. – № 55 (3). – С. 499–507.

255. Battin E. E., Brumaghim J. L. Antioxidant activity of sulfur and selenium: a review of reactive oxygen species scavenging, glutathione peroxidase, and metal-binding antioxidant mechanisms // Cell. Biochem. Biophys. – 2009. – Vol. 55 (1). – P. 1–23.

256. Ramoutar R. R., Brumaghim J. L. Antioxidant and anticancer properties and mechanisms of inorganic selenium, oxo-sulfur, and oxo-selenium compounds // Cell. Biochem. Biophys. – 2010. – Vol. 58 (1). – P. 1–23.

257. Breccia A., Badiello R., Trenta A., Mattii M. On the chemical radioprotection by organic selenium compounds *in vivo* // Rad. Res. – 1969. – Vol. 38 (3). – P. 483–492.

258. Weiss J. F., Srinivasan V., Kumar K. S. et al. Radioprotection by selenium compounds // Biol. Trace Element Res. – 1992. – Vol. 33 (1–3). – P. 164–165.

259. Bakir M. A., Alya G., Mohammad A. et al. Radio-protective effects of selenium in rats // J. Radioanalyt. Nucl. Chem. – 2005. – Vol. 266 (2). – P. 165–170.

260. Tak J. K., Park J. W. The use of ebselen for radioprotection in cultured cells and mice // Free Radic. Biol. Med. – 2009. – Vol. 46 (8). – P. 1177–1185.

261. Kunwar A., Priyadarsini K. I. Organoselenium compounds: a new generation of radioprotectors // BARC Newsletter. – 2011. – Vol. 319. – P. 1–7.

262. Harrison J. H., Conrad H. R. Selenium content and glutathione peroxidase activity in tissues of the dairy cow after short-term feeding // J. Dairy Sci. – 1984. – Vol. 67 (10). – P. 2464–2470.

263. Петрович Ю. А., Терехина Н. А., Шмагель К. В. Влияние селенита натрия на активность глутатионпероксидазы и супероксиддисмутазы в тканях глаза при герпетическом кератите // Бюлл. эксперим. биол. мед. – 1987. – № 103 (4). – С. 405–407.

264. Wu X., Huang K., Wei C. Regulation of cellular glutathione peroxidase by different form and concentration of selenium in primary cultured bovine hepatocytes // J. Nutr. Biochem. – 2010. – Vol. 21 (2). – P. 153–161.

265. Берка А., Вултерин Я., Зыка Я. Новые редокс-методы в аналитической химии. – М.: Химия, 1989. – 243 с.

266. Общая органическая химия / Ред. Д. Бартон, В. Д. М. Оллис. – М.: Химия, 1982. – Т. 2. – С. 28.

267. Baroni A. Diphenyl polysulfides, thioselenides and selenodisulfides // Atti Accad. Naz. Lincei. – 1930. – Vol. 11 (6). – P. 579–582.

268. Новиков А. В., Кошелев Г. Н., Бубляев Р. А. и др. Исследование неферментативного взаимодействия селена и серебра с цистеином и глутатионом с помощью приборного комплекса МХ-5310 // Научное приборостроение. – 2008. – Vol. 18 (4). – P. 79–87.

269. Lu J., Bernadt C., Holmgren A. Mechanism of selenium compounds catalyzed by the mammalian selenoprotein thioredoxin reductase // Biochim. Biophys. Acta. – 2009. – Vol. 1790 (11). – P. 1513–1519.

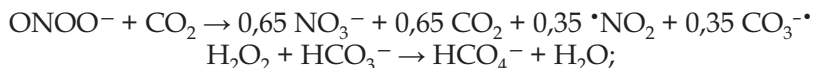
270. Kim J. Y., Lee K. H., Shim M. S. et al. Human selenophosphate synthetase 1 has five splice variants with unique interactions, subcellular localization and expression patterns // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2010. – Vol. 397 (1). – P. 53–58.
271. Turanov A. A., Xu X. M., Carlson B. A. et al. Biosynthesis of selenocysteine, the 21<sup>st</sup> amino acid in the genetic code, and a novel pathway for cysteine biosynthesis // *Adv. Nutr.* – 2011. – Vol. 2 (2). – P. 122–128.
272. Gupta M., Copeland P. R. Functional analysis of the interplay between translation termination, selenocysteine codon context, and selenocysteine insertion sequence-binding protein 2 // *J. Biol. Chem.* – 2007. – Vol. 282 (51). – P. 36797–36807.
273. Howard M. T., Moyle M. W., Aggarwal G. et al. A recoding element that stimulates decoding UGA codons by tRNA[Ser]Sec // *RNA.* – 2007. – Vol. 13 (6). – P. 912–920.
274. Squires J. E., Berry M. J. Eucaryotic selenoprotein synthesis: mechanistic insight incorporating new factors and new functions for old factors // *IUBMB Life.* – 2008. – Vol. 60 (4). – P. 232–235.
275. Kryukov G. V., Castellano S., Novoselov S. V. et al. Characterization of mammalian selenoproteomes // *Science.* – 2003. – Vol. 300 (5624). – P. 1439–1443.
276. Calvert J. W., Jha S., Gundewar S. et al. Hydrogen sulfide mediates cardioprotection through Nfr2 signaling // *Circ. Res.* – 2009. – Vol. 105 (4). – P. 365–374.
277. Cavlert J. W., Coetzee W. A., Lefter D. J. et al. Novel insights into hydrogen sulfide-induced cytoprotection // *Antioxid. Redox Signal.* – 2010. – Vol. 12 (10). – P. 1203–1217.
278. Szabo G., Veres G., Radovits T. et al. Cardioprotective effects of hydrogen sulfide // *Nitric Oxide.* – 2011. – Vol. 25 (2). – P. 201–210.
279. Yang C., Yang Z., Zhang M. et al. Hydrogen sulfide protects against chemical hypoxia-induced cytotoxicity and inflammation in HaCaT cells through inhibition ROS/NF-kB/COX-2 pathway // *PLoS One.* – 2011. – Vol. 6 (7). – P. e21971.
280. Batt E. E., Zimmerman M. T., Ramoutar R. R. et al. Preventing metal-mediated oxidative DNA damage with selenium compounds // *Metallomics.* – 2011. – Vol. 3 (5): 503–512.
281. Mezes M., Balogh K. Prooxidant mechanisms of selenium toxicity – a review // *Acta Biol. Szeged.* – 2009. – Suppl. 1. – P. 15–18.

### 1.4.3. Митохондриальные антиоксиданты

Рассмотрение проблемы фармакологической коррекции проявлений митохондриального оксидативного стресса следует начать с упоминания ряда аспектов, определяющих своеобразие неферментативного окисления в данном замкнутом компартменте клеток [1–10]:

- общая расчетная площадь внутренних митохондриальных мембран человека составляет 14 000 м<sup>2</sup>;
- при дисфункции электрон-транспортной цепи супероксидный анион-радикал может поступать как в матрикс (с комплексов I, III), так и в межмембранное пространство митохондрий (с комплекса III);
- в силу наличия липидного бислоя и градиента электрического поля на внутренней митохондриальной мембране супероксид-радикал не способен покинуть митохондриальный матрикс;

- нарушение гомеостатирования уровня свободного ионизированного кальция в цитозоле сопровождается увеличением содержания  $\text{Ca}^{2+}$  в матриксе митохондрий, что стимулирует активность митохондриальной NO-синтазы и, следовательно, обеспечивает резкое возрастание объема продукции  $\text{NO}^{\bullet}$ ;
- продукция  $\text{O}_2^{\bullet-}$  и  $\text{NO}^{\bullet}$  в замкнутом объеме с неизбежностью приводит к образованию пероксинитрита ( $\text{ONOO}^-$ ), обладающего способностью проникать из матрикса в межмембранное пространство митохондрий;
- протонирование  $\text{ONOO}^-$  в кислой среде межмембранного пространства митохондрий сопровождается немедленной декомпозицией соединения с выделением гидроксильного радикала (наиболее агрессивного из всех известных);
- свободнорадикальное окисление кардиолипина, основного фосфолипида наружного монослоя внутренней митохондриальной мембраны, особо чувствительного к воздействию прооксидантов из-за высокой степени ненасыщенности остатков жирных кислот, сопровождается сольюбилизацией цитохрома C в межмембранном пространстве;
- в силу метаболической особенности (высокая локальная концентрация бикарбоната) спектр ковалентных модификаций митохондриальных макромолекул, индуцируемых при оксидативном стрессе, в определенной степени формируется под влиянием весьма реакционно-способных карбонат-радикала ( $\text{CO}_3^{\bullet-}$ , ОВП 1,78 В, при pH 7,0) и пероксимонарбоната ( $\text{HCO}_4^-$ , ОВП 1,8 В), появляющихся в реакциях:



- структура митохондриальных протеинов при оксидативном стрессе может быть ковалентно модифицирована в результате окисления, нитрирования, S-нитрозилирования, S-глутатионилирования и карбонилирования;
- одним из наиболее восприимчивых к воздействию прооксидантов митохондриальных протеинов выступает Mn-SOD, ингибирование которой ведет к усилению оксидативного стресса;
- перекисное окисление липидов митохондриальных мембран сопровождается накоплением высоко реакционно-способных альдегидов, например таких как 4-гидрокси-2,3-транс-ноненаль, малоновый диальдегид, и, как следствие, интенсификацией вторичных реакций ковалентной модификации биомолекул.

Естественно, структурные элементы митохондрий подвергаются свободно-радикальной деградации в том случае, когда объем продукции прооксидантов превышает антиоксидантный потенциал органеллы. Одно из проявлений интенсификации неферментативного окисления в митохондриях при оксидативном стрессе – формирование одно- и двухцепочечных разрывов митохондриальной ДНК. Появление 5`- и 3`-концов цепочек ДНК стимулирует активность поли-(АДФ-рибоза)-полимеразы-1, локализованной в матриксе митохондрий, что при соответствующем уровне повреждений митохондриального генома может сопровождаться истощением пула  $\text{NAD}^+$  и торможением синтеза АТФ [11].

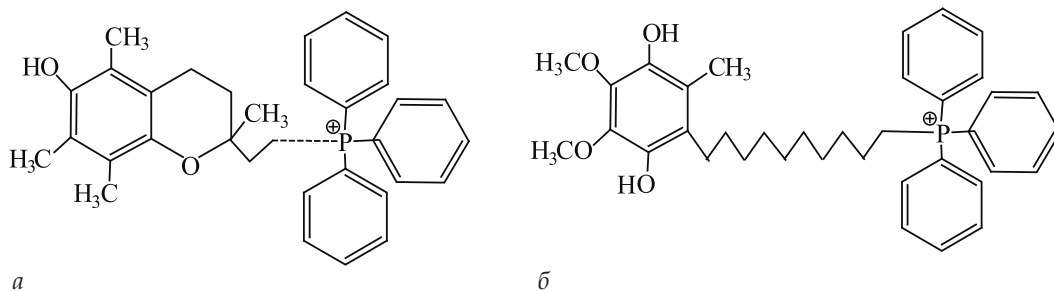
Считается, что важнейшим следствием свободнорадикальной модификации протеинов внутренней митохондриальной мембраны, помимо снижения энергетического потенциала клетки, предстает формирование митохондриальной поры транзитной проницаемости, ведущее к гибели клетки [12–17]. Представляется возможным, что в процессе формирования митохондриальной транзитной проницаемости, помимо прочего, не последнюю роль играет АДФ-рибозилирование (индуцированное оксидативным стрессом) адениннуклеотидтранслоказы, других протеинов митохондриальных мембран. И этот вопрос, учитывая его прикладную значимость, требует тщательной экспериментальной проработки.

Поскольку совокупность митохондрий представляет собой не только самый мощный внутриклеточный источник прооксидантов, но и особо уязвимый объект их повреждающего действия, состояние которого предопределяет ответ на вопрос «быть или не быть» клетке как биологической системе, постольку актуальна проблема фармакологической коррекции проявлений митохондриального оксидативного стресса. Сложность решения данного вопроса связана с селективной проницаемостью митохондриальных мембран, т. е. с доставкой антиоксидантов в матрикс митохондрий. Например, громоздкие белковые молекулы супероксиддисмутазы (молекулярная масса Cu,Zn-SOD 32,5 кДа, Mn-SOD – 88 кДа) и каталазы (молекулярная масса каталазы 240 кДа) не могут преодолеть даже плазматическую мембрану клеток, поэтому при парентеральном введении неэффективны как гасители внутриклеточных прооксидантов (супероксидного анион-радикала и пероксида водорода соответственно) [2, 18, 19]. Витамин E и CoQ в силу высокой липофильности склонны накапливаться преимущественно в клеточных мембранах, что также не способствует быстрому достижению значимых концентраций данных антиоксидантов внутри клеток [2]. Вместе с тем о потенциальной эффективности внутримитохондриальной детоксикации прооксидантов свидетельствует тот факт, что сверхэкспрессия каталазы в митохондриях увеличивает продолжительность жизни мышей на 20% [20].

Прямая (адресная) доставка лекарственных субстанций в митохондрии, длительное время остававшаяся «голубой мечтой» фармакологов, только в последние годы стала находить свое воплощение в ряде методических решений, имеющих реальные шансы получить применение в клинической практике. Использование движущей силы электрохимического градиента внутренней митохондриальной мембраны (150–180 мВ [21]) – основная идея решения проблемы векторного переноса химических соединений в матрикс митохондрий. В частности, некоторые «положительно заряженные митохондриотропные» субстанции способны не только преодолевать митохондриальные мембраны, но и аккумулироваться в матриксе, когда внутримитохондриальная концентрация липофильных катионов может на два-три порядка превосходить их уровень в цитозоле клеток [22–24]. В качестве примера такого липофильного делокализованного (экранированного) катиона можно назвать трифенилфосфоний-катион (TRP<sup>+</sup>). Конъюгирование TRP<sup>+</sup> с гидрофобными  $\alpha$ -токоферолом и CoQ позволило создать тропные к митохондриям антиоксиданты – MitoVitE и MitoQ [25–27].

MitoVitE и MitoQ (рис. 21) способны ингибировать H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-индуцированный апоптоз при концентрации 1 мкмоль [28, 29] и по эффективности в сотни раз превосходят другие антиоксиданты [30, 31].





**Рис. 21.** «Митохондриальные» антиоксиданты: *a* – 2-[2-(трифенилфосфоний)этил]-3,4-дигидро-2,5,7,8-тетрамethyl-2H-1-бензопиран-6-ол (MitoVitE); *б* – 10-(6'-убихиноил)децилтрифенилфосфоний (MitoQ)

Предварительное назначение MitoQ обеспечивает протективный эффект при ишемически-реперфузионных нагрузках на миокард [32]. Основными недостатками MitoVitE и MitoQ можно считать отсутствие у них способности проникать через гематоэнцефалический барьер и проявление феномена самоограничения поступления в матрикс митохондрий при концентрациях, превышающих 50 мкмоль [33, 34]. Последние свойства данных антиоксидантов обусловлены, по-видимому, катионной природой соединений.

Используя концепцию, аналогичную конъюгированию антиоксидантов с TRP<sup>+</sup>, S. S. Sheu и соавт. синтезировали холиновые эфиры (имеющие экранированный катион) глутатиона и N-ацетилцистеина для решения задачи направленного транспорта в матрикс митохондрий. Подход оказался плодотворным – катионная группировка холинового спирта обеспечивала накопление тиоловых антиоксидантов в митохондриях. В культуре клеток холиновые эфиры тиолов эффективно подавляли проявления оксидативного стресса [23].

Идея использования липофильных катионов для адресной доставки в митохондрии фармакофоров оказалась плодотворной и относительно полипептидов. В частности, циклоспорин А (CsA) – ингибитор митохондриального циклофилина D, контролирующего формирование митохондриальной поры транзитной проницаемости, после конъюгирования с трифенилфосфоний-катионом приобретает повышенную тропность к внутренней митохондриальной мембране. И это более чем на порядок увеличивает цитопротективную эффективность митохондриотропного циклоспорина А относительно нативного CsA [35, 36].

Революционным событием в экспериментальной биологии и медицине можно считать обнаружение группы малых пептидных молекул (тетрапептидов), обладающих способностью свободно преодолевать фосфолипидный бислой клеточных мембран и отличающихся выраженной антиоксидантной активностью [37]. Общей структурной особенностью данных пептидов, получивших название «пептиды Сзето–Шиллера» (SS-пептиды), является чередование остатков ароматических и катионных аминокислот [37–39]. Эти ароматически-катионные пептиды, имея при физиологических значениях pH «положительный» электрический заряд, равный трем единицам [40], способны энергонезависимым образом проникать через плазматическую мембрану в прямом и обратном направлениях без эффекта насыщения, создавая уже через тридцать минут равновесные концентрации в цитозоле и среде инкубации [40, 41]. Природа SS-пептидов

обеспечивает им не только способность легко проникать в цитозоль клеток, но и селективно накапливаться в митохондриях. В отличие от MitoVitE и MitoQ, векторное поступление ароматически-катионных пептидов в митохондрии не зависит от величины потенциала внутренней митохондриальной мембраны и обеспечивает создание концентраций, на три-четыре порядка превышающих уровень внеклеточной среды [37, 41]. Поскольку SS-пептиды примерно на 85% ассоциированы с внутренней митохондриальной мембраной (по-видимому, за счет взаимодействия с анионными группами кардиолипина) и не проникают в матрикс, их накопление в органелле не влияет на величину трансмембранного потенциала и не имеет самоограничения [37].

Тирозин- и диметилтирозин-содержащие SS-тетрапептиды эффективно гасят такие прооксиданты, как супероксидный анион-радикал, пероксид водорода, гидроксильный радикал, пероксинитрит и ингибируют пероксидацию липидов [37, 39]. При этом, вероятно, тирозин, восстанавливая свободные радикалы, превращается в относительно инертный тирозил-радикал, который далее в результате межрадикальных взаимодействий образует дитирозины или гидропероксид тирозина (после взаимодействия с супероксидным анион-радикалом) [42]. Оказалось, что в составе тетрапептидов диметилтирозин более эффективно гасит активные формы и метаболиты кислорода, чем тирозин. А локализация остатка тирозина или диметилтирозина в составе тетрапептида, по-видимому, не определяет антиоксидантных свойств соединения, но замена тирозина на любую другую ароматическую аминокислоту сопровождается полной утратой антиоксидантных свойств тетрапептида [37].

Будучи эффективными гасителями прооксидантов, SS-пептиды проявляют выраженную способность ингибировать набухание митохондрий и выделение из них цитохрома C вследствие пермеабилзации митохондриальных мембран под влиянием высоких уровней ионов кальция и неорганического фосфата [37, 43]. По-видимому, именно проникновение пептидных антиоксидантов внутрь митохондрий и селективное накопление их на поверхности внутренней митохондриальной мембраны представляют собой необходимые условия реализации данного вида биологической активности, поскольку другие пептидные антиоксиданты, не способные проникать в межмембранное пространство, подобными эффектами не отличаются [2].

Накапливаясь на наружной поверхности внутренней митохондриальной мембраны, SS-пептиды уже в наномолярном диапазоне концентраций проявляют себя как цитопротекторы при оксидативном стрессе [37, 41], обеспечивающие поддержание энергопродукции, блокирующие апоптотическую и некротическую гибель клеток [44, 45]. Цитопротективная эффективность ароматически-катионных тетрапептидов доказательно подтверждена в процессе доклинических испытаний на примерах нейродегенеративных заболеваний и ишемически-реперфузионных повреждений [43]. В отличие от этого, большинство других антиоксидантов подобную активность проявляют при концентрациях не менее 100 мкмоль (т. е. при концентрациях, на пять порядков превышающих эффективные уровни SS-пептидов) [30, 46, 47]. И даже MitoQ блокировал  $H_2O_2$ -индуцированный апоптоз только при концентрациях не ниже 1 мкмоль, при том что его уровни, превышающие 10 мкмоль, уже цитотоксичны [34, 48]. Большая широта терапевтического действия выгодно отличает SS-пептиды от многих фармакологических средств, не проявляя

никаких токсических эффектов даже при концентрации 1 ммоль [2], пептидные антиоксиданты уже при субнаномолярных уровнях предотвращали митохондриальную деполяризацию (формирование митохондриальной поры транзитной проницаемости) и ингибировали апоптоз клеток [41].

Назначение антиоксидантных тетрапептидов предварительно или вскоре после предъявления ишемической нагрузки на миокард, т. е. в самом начале реперфузии, в значительной мере предотвращало снижение контрактильной способности сердечной мышцы и существенно уменьшало размеры зоны инфаркта миокарда [49–51]. Использование SS-пептидов сразу же после окончания моделирования острой церебральной ишемии в дозе 2 мг/кг также сопровождалось существенным снижением выраженности отечных явлений и уменьшением объема инфаркта ткани головного мозга [2].

Ароматически-катинные пептиды обладают весьма привлекательным фармакологическим профилем [2, 52–54], поскольку они:

- представляют собой низкомолекулярные, легко синтезируемые соединения;
- обладают хорошей растворимостью в воде и достаточно устойчивы к действию пептидаз;
- обладают потенциалом дальнейшего увеличения устойчивости к воздействию пептидаз посредством амидирования С-конца тетрапептида либо введения в его состав D-аминокислот;
- наделены способностью не только проникать в цитозоль, но и проходить через клетки транзитом по градиенту концентрации в любом направлении (как в апикально-базолатеральном, так и обратном направлении);
- отличаются способностью преодолевать гематоэнцефалический барьер;
- имеют высокий показатель аффинности к  $\mu$ -опиоидным рецепторам и демонстрируют свойства мощных анальгетиков — длительность периода анальгезии после однократного подкожного введения SS-пептида в четыре раза превышает время обезболивающего действия равноэффективной дозы морфина.

Располагая таким «послужным списком», успешно преодолевая барьеры доклинических испытаний, антиоксидантные тетрапептиды, по нашему мнению и мнению других специалистов [43], имеют реальные шансы занять достойное место в арсенале фармакологических средств клинической медицины.

Поскольку наиболее агрессивный прооксидант  $\cdot\text{OH}$  — это, главным образом, продукт реакций с участием металлов переменной валентности ( $\text{Me}^{n+}$ ) [55, 56], соединения, исключая участие  $\text{Me}^{n+}$  в этих реакциях, будут выступать в качестве антиоксидантов [57–59]. В физиологических условиях уровень ионов переходных металлов строго контролируется — в крови и внеклеточных жидкостях транспорт  $\text{Fe}^{3+}$  осуществляется трансферрином, а внутриклеточное депонирование ионов железа обеспечивается ферритином [60–62]. Ионы меди в основном связывает церулоплазмин [63]. Особенностью данного естественного механизма антиоксидантной защиты является сильная зависимость связывания  $\text{Me}^{n+}$  от pH: при  $\text{pH} < 5,5$  все вышеперечисленные комплексоны теряют  $\text{Me}^{n+}$  в каталитически активной форме [64]. С одной стороны, это усиливает микробцидное действие пероксида водорода в фагосомах иммунных клеток в области воспалительной реакции [65–67], а с другой — может служить весомым патогенетическим фактором при формировании ишемических повреждений [68], при хронических заболеваниях, таких как демиелинизирующие поражения

ЦНС [69] и ревматоидный артрит, когда содержание свободных ионов железа в биосредах прямо коррелирует с тяжестью заболевания [70, 71].

Таким образом, кислородная токсичность — следствие «опасного партнерства» ионов металлов переменной валентности и частично восстановленных форм кислорода [72, 73]. И особенно чревато последствиями такое «партнерство» в энергетическом сердце клеток, т. е. в митохондриях. В течение последнего десятилетия экспериментально установлено, что каталитически активные катионы железа присутствуют не только в цитозоле, но и в клеточных органеллах, в частности в митохондриях [74, 75], становясь значимым патогенетическим фактором при нейродегенеративных заболеваниях. Из цитозоля в митохондрии ионы железа доставляются белками-переносчиками митоферрин-1 и митоферрин-2 [76], которые при стрессовых ситуациях резко увеличивают уровень свободного железа в данных органеллах [77]. Внутримитохондриальные каталитически активные катионы железа, являясь причиной и следствием оксидативного стресса, участвуют в формировании митохондриальной дисфункции, ведущей к энергодифициту и клеточной гибели. И поэтому синтетический хелатирующий агент HBED [N,N'-bis (2-hydroxybenzyl) ethylenediamine-N,N'-diacetic acid], отличающийся липофильностью, способностью проникать внутрь клеток и митохондрий, самым значимым образом снижает выраженность свободнорадикальных повреждений митохондрий, что проявляется цитопротективными эффектами. HBED, не обладая побочными эффектами, не теряя специфической активности при пероральном назначении, успешно проходит доклинические испытания [77]. Надо полагать, что после получения разрешения на применение данного соединения в качестве лекарственного средства оно займет достойное место среди митохондриотропных антиоксидантов.

В плане рассматриваемого вопроса следует акцентировать особое внимание на свойствах и роли ксантиноксидоредуктазы (КОР) в формировании митохондриальных дисфункций. КОР идентифицирована более сотни лет тому назад [78]. Данный энзим относится к семейству молибдензависимых ферментов, включающему также альдегидоксидазу и сульфитоксидазу [79, 80]. Ксантиноксидоредуктаза в биологических системах представлена в виде двух изоформ: ксантиндегидрогеназной (КДГ) и ксантиноксидазной (КСО), способных конвертироваться одна в другую [81]. Доминантным вариантом энзима *in vivo* выступает его ксантиндегидрогеназная изоформа [82, 83]. Обе изоформы фермента обеспечивают протекание двух конечных реакций деградации пуринов, окисляя гипоксантин до ксантина и последний до мочевой кислоты [84]. Различие между изозимами проявляется в том, что если в процессе окислительно-восстановительных реакций ксантиноксидаза восстанавливает только кислород, то ксантиндегидрогеназа — как кислород, так и  $\text{NAD}^+$  (главным образом последний) [85]. В состав ксантиноксидоредуктазы в качестве кофакторов входят молибдоптерин (Mo-Co), два железо-серных центра ( $\text{Fe}_2\text{-S}_2$ ) и флавинодениндинуклеотид [84].

Ген, кодирующий последовательность аминокислотных остатков в полипептидной цепи ксантиноксидоредуктазы человека, имеет 36 экзонов [86] и локализован на коротком плече второй хромосомы [87, 88]. Матричная РНК ксантиноксидоредуктазы включает 3999 азотистых оснований, кодирующих последовательность 1333 аминокислот, гомологичную на 91% КОР крыс и мышей [87, 89, 90]. Наиболее консервативной частью КОР оказался сайт связывания молибдо-

птерина, имеющий 94% гомологию аминокислотной последовательности с соответствующей частью энзима мелких лабораторных животных. Такую высокую эволюционную консервативность структуры фермента можно трактовать как свидетельство его функциональной значимости, что подтверждается нежизнеспособностью грызунов при нокауте гена ксантиноксидоредуктазы [91].

Ксантиноксидоредуктаза как фермент представляет собой гомодимер, состоящий из каталитически независимых субъединиц с молекулярной массой около 150 кДа [92]. Каждая субъединица имеет трехдоменную организацию. N-терминальный домен состоит из двух субдоменов, формирующих через координатные связи четырех остатков цистеина два ( $\text{Fe}_2\text{-S}_2$ )-содержащих центра, тесно контактирующих с FAD-зависимым доменом. FAD-содержащий центр также тесно контактирует с C-концевым (Mo-Co)-связывающим доменом [93]. Ксантиндегидрогеназа и ксантиноксидаза, обладая одинаковой субстратной специфичностью, различаются по предпочтениям в выборе акцепторов электронов. Предпочтение определяется редокс-статусом SH-групп остатков цистеина в положении 535 и 992 в случае обратимой конверсии [94]. Окисление SH-групп остатков цистеина в положении 535 и 992 ксантиндегидрогеназы в случаях замораживания и хранения при  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  [83], инкубации в растворе при температуре  $37\text{ }^\circ\text{C}$  [95], воздействия слабых окислителей [96] и нахождения в анаэробных условиях [83], обратимо конвертирует энзим в оксидазную форму. Окисление SH-групп в положении Cys 535 и Cys 992 сопровождается конформационным изменением структуры энзима и утратой взаимодействия между Phe 549 и Trp 336, что делает невозможным реагирование FAD с  $\text{NAD}^+$  [93], но при этом создаются условия для эффективного взаимодействия  $\text{O}_2$  с флавиносодержащим центром. Таким образом, в условиях ишемии будет иметь место конверсия дегидрогеназной формы ксантиноксидоредуктазы в оксидазную — мощный источник супероксидного анион-радикала. Эту конверсию можно предотвратить и даже обратить вспять посредством применения восстановителей (например, назначением натрия тиосульфата).

Помимо обратимой, наблюдается и необратимая трансформация ксантиноксидоредуктазы. Необратимая конверсия КОР осуществляется путем протеолитического расщепления оксидоредуктазы  $\text{Ca}^{2+}$ -активируемыми протеиназами [97, 98] и протеолитическими энзимами нейтрофильных лейкоцитов, которые накапливаются в поврежденной ткани и секретируют эти ферменты во внеклеточное пространство [99].

Ксантиндегидрогеназа взаимодействует с  $\text{O}_2$  в четыре раза медленнее, чем ксантиноксидаза [100, 101], а  $\text{NAD}^+$ , быстро и прочно связываясь с дегидрогеназной формой энзима, конкурентно подавляет взаимодействие последнего с кислородом. Таким образом, генерирование супероксидного анион-радикала при функционировании ксантиндегидрогеназы весьма ограничено, если в достаточном количестве присутствует  $\text{NAD}^+$  [102, 103].

Важно, что в условиях наличия преимущественно NADH (при ишемии доступность NADH как субстрата окисления увеличивается от двух до шести крат [104–106]), который не может играть роль акцептора электронов, ксантиндегидрогеназа начинает функционировать как NADH-оксидаза [102, 103, 107, 108]. При этом NADH прямо передает электрон на FAD энзима, а последний на кислород и таким образом ксантиндегидрогеназа становится генератором супероксидного анион-радикала. NADH-оксидазная активность ксантиноксидоредуктазы

достигает 40% от общей активности фермента в присутствии ксантина [107]. В отличие от ксантиндегидрогеназы, ксантиноксидаза практически не вступает во взаимодействие с NADH [82] и обратимую конверсию ксантиндегидрогеназы в ксантиноксидазу в гипоксических условиях можно было бы рассматривать в качестве адаптивной реакции, если бы акцептором электронов при этом не становился кислород.

Ксантиноксидоредуктаза локализована как в цитозоле [109], так и на плазматической мембране клеток [102], где она фиксируется посредством связи с гликозаминогликанами [110–112]. Высокий аффинитет ксантиноксидоредуктазы к гликозаминогликанам, особенно к гепарину, широко используется при выделении энзима из тканей и, в частности, обуславливает быстрое двух-трехкратное увеличение содержания данного фермента в крови людей после инъекции гепарина [113]. У млекопитающих наиболее высокий уровень содержания ксантиноксидоредуктазы определяется в печени и тощей кишке [114], активность энзима проявляется также и в других органах и тканях, например, в эндотелиоцитах сосудов человека [115].

Показатели активности ксантиноксидоредуктазы у отдельных людей могут отличаться втрое [116]. В качестве объяснения феномена столь широкой вариабельности значений активности данного энзима в популяции принимается то, что *in situ* определенная часть фермента может быть лишена таких кофакторов, как молибдоптерин (Mo-Co) и железо-серных центров ( $Fe_2-S_2$ ) (от 5% до >95%) [117, 118]. Кроме того, возможно предположение, что в той либо иной степени, отличающейся у разных людей, активность энзима блокирована неидентифицированным эндогенным ингибитором. Но сразу же следует отметить, что в условиях гипоксии/ишемии NADH-оксидазная активность КОР всегда имеет потенциальную возможность реализоваться в полной мере, поскольку осуществляется на FAD-содержащем активном центре. Активность ксантиноксидоредуктазы самым существенным образом зависит от парциального давления кислорода в тканях — двукратно увеличивается при гипоксии без изменения уровня экспрессии мРНК фермента и быстро снижается в условиях гипероксии [119, 120]. Считается, что в качестве механизма гипоксической стимуляции активности ксантиноксидоредуктазы выступает фосфорилирование энзима, осуществляемое киназой p38 [121]. Особо значимо активность КОР увеличивается в реперфузионный период [122, 123], при этом в некоторых случаях фиксируется возрастание активности энзима на два-три порядка [124].

Супероксидный анион-радикал может легко (с диффузионно контролируемой скоростью) вступать во взаимодействие с оксидом азота ( $NO^*$ ). В качестве продукта этой реакции предстает прооксидант нерадикальной природы — пероксинитрит ( $ONOO^-$ ) [125]. Актуальность данного вопроса высока в связи с тем и рассматривается он потому, что ксантиноксидоредуктаза, помимо прочего, потенциальный источник оксида азота [126], особенно активно функционирующий в условиях гипоксии/ишемии [127]. Ксантиноксидоредуктаза проявляет редуктазную активность как в отношении неорганических нитратов [127] и нитритов [128–130] на ее (Mo-Co)-содержащем сайте, так и в отношении органических нитратов [131] и нитритов [132]. К настоящему времени твердо установлено, что, в отличие от неорганических, восстановление органических нитропроизводных обеспечивается FAD-зависимым доменом энзима [131]. Продукция супероксид-радикала и оксида азота в одном и том же месте и в одно и то же

время, по сути, эквивалентна генерированию пероксинитрита, что и подтверждено экспериментально [133, 134].

Эволюционно закрепленную физиологичность такой многоликости ксантиноксидоредуктазы, ранее считавшейся только ферментом катаболизма пуринов, в частности, ее способность восстанавливать различные нитропроизводные до оксида азота, по-видимому, следует оценивать исходя из того, что все проявления активности энзима способствуют более эффективному протеканию воспалительной реакции. Например, оксид азота, продуцируемый фагоцитирующими клетками в зоне воспаления, в процессе реализации его биологических эффектов с неизбежностью конвертируется в различные (органические и неорганические) нитропроизводные, но в итоге обязательно с более высокой степенью окисления азота. Ксантиноксидоредуктаза, локализованная на плазматической мембране и в цитозоле эндотелиоцитов, восстанавливая их до  $\text{NO}^{\bullet}$ , обеспечивает сосудистый компонент воспаления, продуцируя другие прооксиданты – рекрутирование циркулирующих в сосудистом русле фагоцитов. Далее, в условиях закисления среды до уровня, блокирующего окислительное фосфорилирование и гликолиз, т. е. при избытке восстановленных форм пиримидиновых нуклеотидов, продукты NADH-оксидазной активности фермента более радикально влияя на течение воспалительной реакции, будут способствовать деградациии инфекционного начала и элиминации нежизнеспособных клеток в очаге воспаления.

Вполне возможно, что ксантиноксидоредуктазу вообще следует рассматривать как незаменимого партнера (*alter ego*) NO-синтазы, обеспечивающего адекватность NO-медиации не только при воспалении, но и в физиологических условиях. На такую мысль наводит одна из недавних публикаций, в которой представлены данные о реципрокности отношений показателей активности КОР и NO-синтаз в миокарде млекопитающих, когда фенотипически низкому уровню продукции  $\text{NO}^{\bullet}$  обязательно соответствовал фенотип с высокой активностью ксантиноксидоредуктазы [135]. Таким образом, ксантиноксидоредуктаза, осуществляя рециклирование оксида азота, фенотипически производимого в минимальном количестве, по-видимому, способствует оптимальному функционированию биологической системы. Кстати, NO-зависимое подавление экспрессии ксантиноксидоредуктазы в миокарде, а значит и снижение ее активности, на фоне систематического применения коронарорасширяющих органических нитропроизводных удовлетворительно объясняет феномен «привыкания» к таким препаратам.

Неконтролируемая продукция прооксидантов ( $\text{O}_2^{-\bullet}$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{NO}^{\bullet}$ ,  $\text{ONOO}^-$ ) ксантиноксидоредуктазой в зоне ишемии/реперфузии потенциально очень опасна для тканей, подвергшихся ишемической нагрузке. Супероксидный анион-радикал, как один из основных побочных продуктов ксантинооксидазных реакций, подвергается спонтанной либо ферментативной дисмутации до пероксида водорода (катализируется СОД). Важной особенностью энзиматического диспропорционирования  $\text{O}_2^{-\bullet}$  является то, что хоть оно и протекает с высокой скоростью ( $K = 3 \cdot 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ), но все же осуществляется в 3–4 раза медленнее, чем происходит спонтанное взаимодействие супероксид-радикала с оксидом азота ( $K = 1 \cdot 10^{10} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ). Поэтому весьма вероятно, что образование пероксинитрита может осуществляться даже в присутствии физиологических концентраций СОД [136].

Наверное, можно было бы обойтись и без столь подробного рассмотрения свойств ксантинооксидоредуктазы в данном разделе, если бы не одно обстоятельство: КОР весьма обильно представлена в митохондриях [137, 138]. Активность КОР в митохондриях существенно возрастает при патофизиологических состояниях, что сопровождается гиперпродукцией прооксидантов, формированием митохондриальной дисфункции и клеточной гибелью. Отмечено изменение активности ксантинооксидоредуктазы и при физиологической инволюции молочной железы — митохондриальный оксидативный стресс, ассоциированный с данным ферментом, индуцирует апоптоз, обеспечивающий элиминацию выполнивших функциональную предназначенность клеток [138]. Естественно, применение аллопуринола (конкурентный ингибитор КОР) в дозах, на порядок превышающих те, что необходимы для ингибирования ксантинооксидоредуктазы в цитозоле клеток, резко ограничивает продукцию свободных радикалов в митохондриях, сохраняет их морфофункциональную полноценность [139–142]. Необходимость использования повышенных доз аллопуринола для обеспечения ингибирования митохондриальной КОР, по-видимому, обусловлена барьерной функцией митохондриальных мембран. Таким образом, аллопуринол, помимо прочего, — митохондриальный антиоксидант.

Основным недостатком аллопуринола как митохондриального антиоксиданта можно считать отсутствие у данного соединения способности селективно накапливаться в митохондриях и ингибировать активность FAD-зависимого центра КОР (аллопуринол не блокирует NADH-оксидазную активность КОР). Ощущается настоятельная необходимость в разработке митохондриотропного препарата, отличающегося способностью ингибировать как (Mo-Co)-, так и FAD-ассоциированные активные центры ксантинооксидоредуктазы. Особое внимание в связи с такой постановкой вопроса привлекают Mn-содержащие порфирины.

Как и в других компартаментах клетки, в митохондриях в качестве неизменного спутника КОР выступает NO-синтаза. Митохондриальная NO-синтаза (mtNOS) экспрессируется конститутивно, уровень активности данного фермента может существенно возрастать при определенных условиях [143]. Митохондриальная NO-синтаза — кальцийзависимый фермент, активность которого начинает возрастать при уровне цитозольного  $Ca^{2+}$  превышающем 1 мкмоль (концентрации, наблюдаемые при адренергической стимуляции [144]). Продуктируемый mtNOS оксид азота  $NO^{\bullet}$  — обратимый ингибитор комплекса IV электрон-транспортной цепи, конкурирующий с  $O_2$  за сайт связывания цитохромоксидазы, играющий таким образом роль физиологического регулятора скорости дыхания и энергопродукции в митохондриях. Физиологические уровни  $NO^{\bullet}$  и  $O_2$  в тканях колеблются в пределах 100–500 нмоль и 10–30 мкмоль соответственно. При таких концентрациях оксидом азота может обеспечиваться полумаксимальное ингибирование митохондриального дыхания [145, 146]. Однако при состояниях, сопровождающихся увеличением концентрации цитозольного ионизированного кальция и перегрузкой митохондрий  $Ca^{2+}$  (например, под влиянием провоспалительных цитокинов [147, 148]), на фоне гиперпродукции  $NO^{\bullet}$ , ингибированию подвергаются комплексы I и III электронтранспортной цепи [149]. Естественно, помимо блокирования энергопродукции, это проявляется утечкой электронов, т. е. дыхательная цепь митохондрий становится источником супероксид-радикала, который, взаимодействуя с  $NO^{\bullet}$ , образует высоко-



токсичный пероксинитрит. При этом структурные компоненты митохондрий подвергаются интенсивному оксидативно-нитрозативному стрессу. Ситуация усугубляется тем, что митохондриальная ксантинооксидоредуктаза, рециклируя нитрит- и нитрат-анионы в монооксид азота, резко увеличивает объем продукции пероксинитрита. В таких условиях клетка без блокирования активности mtNOS обречена на гибель.

В качестве доступного фармакологического средства блокирования митохондриальной NO-синтазы рассматривается ее физиологический ингибитор — мелатонин. Мелатонин (N-ацетил-5-метокситриптамин), впервые обнаружен в 1958 году, — эволюционно древнее, высоко консервативное, широко распространенное в живой природе соединение, выполняющее в организме многоклеточных эукариот множество рецепторнезависимых и рецепторопосредованных функций, включая функцию биологических часов и календаря [150–152]. Способность мелатонина играть роль гасителя прооксидантов обнаружилась в 1993 году [153]. Неожиданно мелатонин оказался весьма эффективным антиоксидантом:

- мелатонин синтезируется в различных органах и тканях человека, его уровень существенно превышает содержание глутатиона в клетках эпителия, непосредственно контактирующих с внешней средой [150];
- в отличие от витаминов-антиоксидантов, будучи амфифильным соединением, мелатонин способен восстанавливать свободные радикалы как в полярной (цитозоль), так и неполярной (липидный бислой мембран) средах и легко преодолевать различные биологические барьеры [154];
- мелатонин в два раза эффективнее  $\alpha$ -токоферола ингибирует пероксидацию липидов биомембран [155], в пять раз активнее глутатиона нейтрализует гидроксильный радикал [156–159], особенно надежно (связываясь, экранируя) защищает от свободнорадикальных повреждений ДНК [160], а также дозозависимым образом снижает активность теломеразы, что проявляется противоопухолевыми эффектами и увеличением продолжительности жизни [207–209];
- помимо гидроксильных и пероксильных радикалов, мелатонин эффективно восстанавливает супероксидный анион-радикал, синглетный кислород, пероксид водорода и гипохлорит-анион [161];
- мелатонин и некоторые из его метаболитов блокируют продукцию NO<sup>•</sup> и, следовательно, подавляют генерирование пероксинитрита, оказывая ингибирующее воздействие на активность NO-синтаз [162–166], особенно эффективно снижая активность митохондриальной изоформы NO-синтазы [167, 168];
- в отличие от витаминов-антиоксидантов, мелатонин при восстановлении прооксидантов передает сразу два электрона и в последующем не трансформируется в свободнорадикальные продукты; первичные и вторичные окси-производные мелатонина также обладают выраженными антиоксидантными свойствами; в результате окислительных превращений одной молекулы мелатонина может быть восстановлено до десяти молекул прооксидантов [169];
- мелатонин, избирательно накапливаясь в мембранах митохондрий [170–173], где взаимодействуя с комплексами I и IV электрон-транспортной цепи, блокирует утечку электронов и образование прооксидантов [174],

- предотвращая тем самым перекисидацию кардиолипина — критически важного фосфолипида для обеспечения оптимального функционирования комплексов III и IV цепи переноса электронов [175–180];
- рецептор-опосредованным путем (вероятно, с участием в трансдукции сигнала плазмомембранных и ядерных рецепторов нейрогормона) под влиянием фармакологических доз мелатонина индуцируется активность антиоксидантных энзимов, при этом наиболее значимо (в 4–8 раз) увеличивается активность митохондриальной глутатионпероксидазы [181–185];
  - мелатонин, стимулируя экспрессию лимитирующего синтез глутатиона энзима ( $\gamma$ -глутамилцистеинсинтазы), увеличивает объем продукции глутатиона, обеспечивая поддержание его содержания в клетках на оптимальном уровне [186];
  - блокируя активацию, транслокацию в ядро и связывание с промоторными участками ДНК провоспалительного фактора транскрипции NF- $\kappa$ B, мелатонин оказывает противовоспалительное действие, ингибируя экспрессию индуцибельных циклооксигеназы-2 и iNOS [187–192];
  - контролируя тонус гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, мелатонин способен минимизировать неблагоприятные последствия хронических стрессорных воздействий [193–195];
  - мелатонин оптимизирующе влияет на функциональное состояние иммунной системы [196–201];
  - мелатонин обладает радиопротективной активностью [202, 203], способностью подавлять пролиферативную, метастатическую активность клеток злокачественных опухолей [204, 205] и ингибировать мутагенное действие канцерогенов [206].

Учитывая значимость митохондриального оксидативного стресса в формировании биоэнергетических нарушений и реализации апоптотического варианта гибели клеток, не вызывает сомнений то, что митохондриотропные антиоксиданты займут достойное место в качестве базисных элементов патогенетически обоснованной фармакологической коррекции различных патологических состояний. Заканчивая данный подраздел, можно сказать, что к настоящему времени осознана потребность в таких препаратах, установлены пути предупреждения митохондриальных дисфункций, поэтому перечень митохондриотропных препаратов, безусловно, будет расширяться и мы вправе ожидать появления в арсенале клинической медицины новых высокоэффективных лекарственных средств.

## Литература

1. Muller F. L., Liu Y., Van Remmen H. Complex III release superoxide to both side of the inner mitochondrial membrane // *J. Biol. Chem.* — 2004. — Vol. 279 (47). — P. 49064–49073.
2. Szeto H. H. Mitochondrial-targeted peptide antioxidants: novel neuroprotective agents // *AAPS J.* — 2006. — Vol. 8 (3). — P. E521–E531.
3. Chen J. J., Yu B. P. Alterations in mitochondrial membrane fluidity by lipid peroxidation products // *Free Radic. Biol. Med.* — 1994. — Vol. 17 (5). — P. 411–418.
4. Laganier S., Yu B. P. Modulation of membrane phospholipid fatty acid composition by age and food restriction // *Gerontology.* — 1993. — Vol. 39 (1). — P. 7–18.

5. *Shidoji Y., Hayashi K., Komura S. et al.* Loss of molecular interaction between cytochrome c and cardiolipin due to lipid peroxidation // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1999. – Vol. 264 (2). – P. 343–347.
6. *Hirst J., King M. S., Pryde K. R.* The production of reactive oxygen species by complex I // *Biochem. Soc. Trans.* – 2008. – Vol. 36 (Pt 5). – P. 976–980.
7. *Hirst J.* Towards the molecular mechanism of respiratory complex I // *Biochem. J.* – 2009. – Vol. 425 (2). – P. 327–339.
8. *Richardson D. E., Yao H., Frank K. M., Benner D. A.* Equilibria, kinetics, and mechanism in the bicarbonate activation of hydrogen peroxide: oxidation of sulfides by peroxy-monocarbonate // *J. Chem. Soc.* – 2000. – Vol. 122 (8). – P. 1729–1739.
9. *Medinas D. B., Cerchiaro G., Trindade D. F., Augusto O.* The carbonate radical and related oxidants derived from bicarbonate buffer // *IUBMB Life.* – 2007. – Vol. 59 (4–5). – P. 255–262.
10. *Rich P.* Chemiosmotic coupling: the cost of living // *Nature.* – 2003. – Vol. 421 (6923). – P. 583.
11. *Erdelyi K., Bakondi E., Gergely P. et al.* Pathophysiologic role of oxidative stress-induced poly (ADP-ribose) polymerase-1 activation: focus on cell death and transcriptional regulation // *Cell Mol. Life Sci.* – 2005. – Vol. 62 (7–8). – P. 751–759.
12. *Kroemer G., Dallaporta B., Resche-Rigon M.* The mitochondrial death/life regulator in apoptosis and necrosis // *Annu. Rev. Physiol.* – 1998. – Vol. 60. – P. 619–642.
13. *Crompton M.* The mitochondrial permeability transition pore and its role in cell death // *Biochem. J.* – 1999. – Vol. 341 (2). – P. 233–249.
14. *Cadenas E., Davies K. J.* Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging // *Free Radic. Biol. Med.* – 2000. – Vol. 29 (3–4). – P. 222–230.
15. *Vieira H. L., Belzacq A. S., Haouzi D. et al.* The adenine nucleotide translocator: a target of nitric oxide, peroxynitrite and 4-hydroxynonenal // *Oncogene.* – 2001. – Vol. 20 (32). – P. 4305–4316.
16. *Leung A. W., Halestrap A. P.* Recent progress in elucidating the molecular mechanism of the mitochondrial permeability transition pore // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2008. – Vol. 1777 (7–8). – P. 946–952.
17. *Martin L. J., Adams N. A., Pan Y. et al.* The mitochondrial permeability transition pore regulates nitric oxide-mediated apoptosis of neurons induced by target deprivation // *J. Neurosci.* – 2011. – Vol. 31 (1). – P. 359–370.
18. *Hamvas A., Palazzo R., Kaiser L. et al.* Inflammation and oxygen free radical formation during pulmonary ischemia-reperfusion injury // *J. Appl. Physiol.* – 1992. – Vol. 72 (2). – P. 621–628.
19. *Day B. J.* Catalytic antioxidants: a radical approach to new therapeutics // *Drug Discov. Today.* – 2004. – Vol. 9 (13). – P. 557–566.
20. *Schriner S. E., Linford N. J., Martin G. M. et al.* Extension of murine life span by overexpression of catalase targeted to mitochondria // *Science.* – 2005. – Vol. 308 (5730). – P. 1909–1911.
21. *Kamo W., Muratsugu M., Hongoh R., Kabatake Y.* Membrane potential measured with an electrode sensitive to tetraphenyl phosphonium and relationship between proton electrochemical potential and phosphorylation potential in steady state // *J. Membr. Biol.* – 1979. – Vol. 49 (2). – P. 105–121.
22. *Weissing V.* Mitochondrial-targeted drug and DNA delivery // *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* – 2003. – Vol. 20 (1). – P. 1–62.

23. Sheu S. S., Nauduri D., Anders M. W. Targeting antioxidants to mitochondria: a new therapeutic direction // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2006. – Vol. 1762 (2). – P. 256–265.
24. Victor V. M., Apostolova N., Herance R. et al. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in atherosclerosis: mitochondria-targeted antioxidants as potential therapy // *Curr. Med. Chem.* – 2009. – Vol. 16 (35). – P. 4654–4667.
25. Murphy M. P., Smith P. A. Drug delivery to mitochondria: the key to mitochondrial medicine // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2000. – Vol. 41 (2). – P. 235–250.
26. Armstrong J. S. Mitochondrial medicine: pharmacological targeting of mitochondria in disease // *Br. J. Pharmacol.* – 2007. – Vol. 151 (8). – P. 1154–1165.
27. Frantz M. C., Wipf P. Mitochondria as a target in treatment // *Environ. Mol. Mutagen.* – 2010. – Vol. 51 (5). – P. 462–475.
28. Dhanasekaran A., Kotamraju S., Kalivendi S. V. et al. Supplementation of endothelial cells with mitochondria-targeted antioxidants inhibit peroxide-induced mitochondrial iron uptake, oxidative damage, and apoptosis // *J. Biol. Chem.* – 2004. – Vol. 279 (36). – P. 37575–37587.
29. Graham D., Huynh N. N., Hamilton C. A. et al. Mitochondria-targeted antioxidant MitoQ10 improves endothelial function and attenuates cardiac hypertrophy // *Hypertension.* – 2009. – Vol. 54 (2). – P. 322–328.
30. Jauslin M. L., Meier T., Smith R. A., Murphy M. P. Mitochondria-targeted antioxidants protect Friedrich ataxia fibroblasts from endogenous oxidative stress more effectively than untargeted antioxidants // *FASEB J.* – 2003. – Vol. 17 (13). – P. 1972–1974.
31. McManus M. J., Murphy M. P., Franklin J. L. The mitochondria-targeted antioxidant MitoQ prevents loss of spatial memory retention and early neuropathology in a transgenic mouse model of Alzheimer`s disease // *Neurobiol. Dis.* – 2011. – Vol. 31 (44). – P. 15703–15715.
32. Adlam V. J., Harrison J. C., Porteous C. M. et al. Targeting an antioxidant to mitochondria decreases cardiac ischemia-reperfusion injury // *FASEB J.* – 2005. – Vol. 19 (9). – P. 1088–1095.
33. Smith R. A., Porteous C. M., Coulter C. V., Murphy M. P. Selective targeting of an antioxidant to mitochondria // *Eur. J. Biochem.* – 1999. – Vol. 263 (3). – P. 709–716.
34. Kelso G. F., Porteous C. M., Coulter C. V. et al. Selective targeting of a redox-active ubiquinone to mitochondria within cells: antioxidant and antiapoptotic properties // *J. Biol. Chem.* – 2001. – Vol. 276 (7). – P. 4588–4596.
35. Malouitre S., Dube H., Selwood D., Crompton M. Mitochondrial targeting of cyclosporine A enables selective inhibition of cyclophilin D and enhanced cytoprotection after glucose and oxygen deprivation // *Biochem. J.* – 2010. – Vol. 2010. – P. 425 (1). – P. 137–148.
36. Dube H., Selwood D., Malouitre S. et al. A mitochondrial targeted cyclosporine A with high affinity for cyclophilin D yields improved cytoprotection of cardiomyocytes // *Biochem. J.* – 2011. – doi. 10.1042/BJ20111301.
37. Zhao K., Zhao G. M., Wu D. et al. Cell-permeable peptide antioxidants targeted to inner mitochondrial membrane inhibit mitochondrial swelling, oxidative cell death, and reperfusion injury // *J. Biol. Chem.* – 2004. – Vol. 279 (33). – P. 34682–34690.
38. Szeto H. H. Cell-permeable, mitochondrial-targeted, peptide antioxidants // *AAPS J.* – 2006. – Vol. 8 (2). – P. E277–E283.
39. Szeto H. H. Mitochondria-targeted cytoprotective peptides for ischemia-reperfusion injury // *Antioxid. Redox Signal.* – 2008. – Vol. 10 (3). – P. 601–619.

40. Zhao K., Luo G., Zhao G. M. et al. Transcellular transport of a highly polar 3+ net charge opioid tetrapeptide // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2003. – Vol. 304 (1). – P. 425–432.
41. Zhao K., Luo G., Gianelli S., Szeto H. H. Mitochondria-targeted peptide prevents mitochondrial depolarization and apoptosis induced by tert-butyl hydroperoxide in neuronal cell lines // *Biochem. Pharmacol.* – 2005. – Vol. 70 (12). – P. 1796–1806.
42. Winterbourn C. C., Parsons-Mair H. N., Gebicki S. et al. Requirements for superoxide-dependent tyrosine hydroperoxide formation in peptides // *Biochem. J.* – 2004. – Vol. 381 (1). – P. 241–248.
43. Rocha M., Hernandez-Mijares A., Garcia-Malpartida K. et al. Mitochondria-targeted antioxidant peptides // *Curr. Pharm. Des.* – 2010. – Vol. 16 (28). – P. 3124–3131.
44. Szeto H. H., Liu S., Soong Y. et al. Mitochondria-targeted peptide accelerates ATP recovery and reduces ischemic kidney injury // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 2011. – Vol. 22 (6). – P. 1041–1052.
45. Chen M., Liu B., Gao Q. et al. Mitochondria-targeted peptide MTP-131 alleviates mitochondrial dysfunction and oxidative damage in human trabecular meshwork cells // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2011. – Vol. 52 (10). – P. 7027–7037.
46. Nieminen A. L., Byrne A. M., Herman B., Lemasters J. J. Mitochondrial permeability transition in hepatocytes induced by t-BuOOH:NAD (P)H and reactive oxygen species // *Am. J. Physiol.* – 1997. – Vol. 272 (4, Pt1). – P. C1286–C1294.
47. Pias E. K., Ekshyyan O. Y., Rhoads C. A. et al. Differential effects of superoxide dismutase isoform expression on hydroperoxide-induced apoptosis in PC-12 cells // *J. Biol. Chem.* – 2003. – Vol. 278 (15). – P. 13294–13301.
48. Mitchell T., Rotaru D., Saba H. et al. The mitochondria-targeted antioxidant mitoquinone protects against cold storage injury of renal tubular cells and rat kidneys // *JPET.* – 2011. – Vol. 336 (3). – P. 682–692.
49. Wu D., Soong Y., Zhao G. M., Szeto H. H. A highly potent peptide analgesic that protects against ischemia-reperfusion-induced myocardial stunning // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2002. – Vol. 283 (2). – P. H783–H791.
50. Song W., Shin J., Lee J. et al. A potent opiate agonist protects against myocardial stunning during myocardial ischemia and reperfusion in rats // *Coron. Artery Dis.* – 2005. – Vol. 16 (6). – P. 407–410.
51. Cho J., Won K., Wu D. et al. Potent mitochondria-targeted peptides reduce myocardial infarction in rats // *Coron. Artery Dis.* – 2007. – Vol. 18 (3). – P. 215–220.
52. Szeto H. H., Lovelace J. L., Fridland G. et al. In vivo pharmacokinetics of selective mu-opioid peptide agonists // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2001. – Vol. 298 (1). – P. 57–61.
53. Zhao G. M., Wu D., Soong Y. et al. Profound spinal tolerance after repeated exposure to a highly selective mu-opioid peptide agonist: role of delta-opioid receptors // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2002. – Vol. 302 (1). – P. 188–196.
54. Szeto H. H., Schiller P. W., Zhao K., Luo G. Fluorescent dyes alter intracellular targeting and function of cell-penetrating tetrapeptides // *FASEB J.* – 2005. – Vol. 19 (1). – P. 118–120.
55. Valko M., Morris H., Cronin M. T. Metals, toxicity and oxidative stress // *Curr. Med. Chem.* – 2005. – Vol. 12 (10). – P. 1161–1208.
56. Jomova K., Valko M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease // *Toxicol.* – 2011. – Vol. 283 (2–3). – P. 65–87.

57. *Srivastava P. J., Chandra S., Arif A. J. et al.* Metal chelators/antioxidants: approaches to protect erythrocytic oxidative stress injury during *Plasmodium berghei* infection in *Mastomys coucha* // *Pharmacol. Res.* – 1999. – Vol. 40 (3). – P. 239–241.
58. *Malecki E. A., Connor J. R.* The case for iron chelation and/or antioxidant therapy in Alzheimer's disease // *Drug Dev. Res.* – 2002. – Vol. 56 (3). – P. 526–530.
59. *Hadzialmetovic M., Song Y., Wolkow N. et al.* The oral iron chelator deferiprone protects against iron overload-induced retinal degeneration // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2011. – Vol. 52 (2). – P. 959–968.
60. *Theil E. C.* Ferritin: structure, gene regulation, and cellular function in animals, plants and microorganisms // *Annu. Rev. Biochem.* – 1987. – Vol. 56. – P. 289–315.
61. *Richardson D. R., Ponka P.* The molecular mechanisms of the metabolism and transport of iron in normal and neoplastic cells // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1997. – Vol. 1331 (1). – P. 1–40.
62. *Theil E. C.* Coordinating responses to iron and oxygen stress with DNA and mRNA promoters: the ferritin story // *Biometals.* – 2007. – Vol. 20 (3–4). – P. 513–521.
63. *Hellman N. E., Giltin J. D.* Ceruloplasmin metabolism and function // *Annu. Rev. Nutr.* – 2002. – Vol. 22 (1). – P. 439–458.
64. *Янковский О. Ю.* Токсичность кислорода и биологические системы (эволюционные, экологические и медико-биологические аспекты). – СПб.: Игра, 2000. – 294 с.
65. *Маянский А. Н., Маянский Д. Н.* Очерки о нейтрофиле и макрофаге. – Новосибирск: Наука, 1989. – 340 с.
66. *Меньщикова Е. Б., Зенков Н. К.* Окислительный стресс при воспалении // *Успехи соврем. биол.* – 1997. – Vol. 117 (2). – P. 155–171.
67. *Haas A.* The phagosome: compartment with a license to kill // *Trafic.* – 2007. – Vol. 8 (4). – P. 311–330.
68. *Биленко М. В.* Ишемические и реперфузионные повреждения органов. – М.: Медицина, 1989. – 368 с.
69. *Le Vine S., Chakrabarty A.* The role of iron in the pathogenesis of experimental allergic encephalomyelitis and multiple sclerosis // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2004. – Vol. 1012. – P. 252–266.
70. *Yazar M., Sarban S., Kocyigit A., Isikan U. E.* Synovial fluid and plasma selenium, copper, zinc and iron concentrations in patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis *Biol. Trace Elem. Res.* – 2005. – Vol. 106 (2). – P. 123–132.
71. *Basaga H. S.* Biochemical aspects of free radicals *Biochem. Cell Biol.* – 1990. – Vol. 68 (7–8). – P. 989–998.
72. *Morris C. J., Earl J. R., Trenam C. W.* Reactive oxygen species and iron – a dangerous partnership in inflammation // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* – 1995. – Vol. 27 (2). – P. 109–122.
73. *Galaris D., Pantopoulos K.* Oxidative stress and iron homeostasis: mechanistic and health aspects // *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* – 2008. – Vol. 45 (1). – P. 1–23.
74. *Petrat F., Weisheit D., Lensen M. et al.* Selective determination of mitochondrial chelatable iron in viable cells with a new fluorescent sensor // *Biochem. J.* – 2002. – Vol. 362 (1). – P. 137–147.
75. *Glickstein H., El R. B., Shwartsman M., Cabantchik Z. I.* Intracellular labile iron pools as direct targets of iron chelators: a fluorescent study of chelator action in living cells // *Blood.* – 2005. – Vol. 106 (9). – P. 3242–3250.

76. Paradakar P. N., Zumbrennen K. B., Paw B. H. et al. Regulation of mitochondrial iron import through differential turnover of mitoferrin 1 and mitoferrin 2 // *Mol. Cell. Biol.* – 2009. – Vol. 29 (4). – P. 1007-1016.

77. Liang L. P., Jarrett S. G., Patel M. Chelation of mitochondrial iron prevents seizure-induced mitochondrial dysfunction and neuronal injury // *J. Neurosci.* – 2008. – Vol. 28 (45). – P. 11550-11556.

78. Schardinger F. Über das Verhalten der Kuhmilch gegen Methylenblau und seine Verwendung zur Unterscheidung von ungekochter und gekochter // *Milch Untersuch. Nahrungsgenussmittel.* – 1902. – Vol. 5. – P. 1113-1121.

79. Kisker C., Schindelin H., Rees D. C. Molybdenum-cofactor-containing enzymes: structure and mechanisms // *Annu. Rev. Biochem.* – 1997. – Vol. 66. – P. 233-267.

80. Kisker C., Schindelin H., Baas D. et al. A structural comparison of molybdenum co-factor-containing enzymes // *FEMS Microbiol. Rev.* – 1998. – Vol. 22 (5). – P. 503-521.

81. Stripe F., Della Corte E. The regulation of rat liver xanthine oxidase – conversion *in vitro* of the enzyme activity from dehydrogenase (type D) to oxidase (type O) // *J. Biol. Chem.* – 1969. – Vol. 244. – P. 3855-3863.

82. Waud W. R., Rajagopalan K. V. Purification and properties of the NAD<sup>+</sup>-dependent (type D) and O<sub>2</sub>-dependent (type O) forms of rat liver xanthine dehydrogenase // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1976. – Vol. 172 (2). – P. 354-364.

83. Della Corte E., Gozzetti G., Novello F., Sprope F. Properties of the xanthine oxidase from human liver // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1969. – Vol. 191 (1). – P. 164-166.

84. Hille R., Nishino T. Xanthine oxidase and xanthine dehydrogenase // *FASEB J.* – 1995. – Vol. (11). – P. 995-1003.

85. Chung H. Y., Baek B. S., Song S. H. et al. Xanthine dehydrogenase/xanthine oxidase and oxidative stress // *Age.* – 1997. – Vol. 20 (3). – P. 127-140.

86. Xu P., Huecksteadt T. P., Hoidal J. R. Molecular cloning and characterization of the human xanthine dehydrogenase gene (XDH) // *Genomics.* – 1996. – Vol. 34 (2). – P. 173-180.

87. Ichida K., Amaya Y., Nada K. et al. Cloning of the cDNA encoding human xanthine dehydrogenase (oxidase): structural analysis of the protein and chromosomal location of the gene // *Gene.* – 1993. – Vol. 133 (2). – P. 279-284.

88. Xu P., Zhu X. L., Huecksteadt T. et al. Assignment of human xanthine dehydrogenase gene to chromosome 2p22 *Genomics.* – 1994. – Vol. 23 (1). – P. 289-284.

89. Xu P., Huecksteadt T., Harrison R., Hoidal J. R. Molecular cloning, tissue expression of human xanthine dehydrogenase // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1994. – Vol. 199 (2). – P. 998-1004.

90. Xu P., Huecksteadt T., Harrison R., Hoidal J. R. Molecular cloning, tissue expression of human xanthine dehydrogenase // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1995. – Vol. 215 (1). – P. 429.

91. Vorbach C., Scriven A., Capecchi M. R. The housekeeping gene xanthine oxidoreductase is necessary for milk fat droplet enveloping and secretion: gene sharing in the lactating mammary gland // *Genes Dev.* – 2002. – Vol. 16 (24). – P. 3223-3235.

92. Krenitsky T. A., Spector T., Hall W. W. Xanthine oxidase from human liver: purification and characterization // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1986. – Vol. 247 (1). – P. 108-119.

93. Enroth C., Eger B. T., Okamoto K. et al. Crystal structures of bovine milk xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase: structure-based mechanism of conversion // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2000. – Vol. 97 (20). – P. 10723-10728.

94. *Nishino T., Nishino T.* The conversion from the dehydrogenase type to the oxidase type of rat liver xanthine dehydrogenase by modification of cysteine residues with fluorodinitro-benzene // *J. Biol. Chem.* – 1997. – Vol. 272 (47). – P. 29589–29684.
95. *Della Corte E., Strip F.* The regulation of rat liver xanthine oxidase: involvement of thiol groups in the conversion of the enzyme activity from dehydrogenase (type D) into oxidase (type O) and purification of the enzyme // *Biochem. J.* – 1972. – Vol. 126 (3). – P. 739–745.
96. *Waud W. R., Rajagopalan K. V.* The mechanism of conversion of rat liver xanthine dehydrogenase from an NAD<sup>+</sup>-dependent form (type D) to an O<sub>2</sub>-dependent form (type O) // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1976. – Vol. 172 (2). – P. 365–379.
97. *Warner D. S., Sheng H., Batinic-Haberle I.* Oxidants, antioxidants and ischemic brain // *J. Experimental Biol.* – 2004. – Vol. 207 (18). – P. 3221–3231.
98. *Radi R., Bush K. M., Cosgrove T. P., Freeman B. A.* Reaction of xanthine oxidase-derived oxidants with lipid and protein of human plasma // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1991. – Vol. 286 (1). – P. 117–125.
99. *Qu X., Rosenfeld R., Huang W. et al.* The role of xanthine oxidase in platelet activating factor induced intestinal injury in the rat // *Gut.* – 1999. – Vol. 44 (2). – P. 203–211.
100. *Saito T., Nishino T.* Differences in redox and kinetic properties between NAD-dependent and O<sub>2</sub>-dependent types of rat liver xanthine dehydrogenase // *J. Biol. Chem.* – 1989. – Vol. 264 (17). – P. 10015–10022.
101. *Saito T., Nishino T., Massey V.* Differences in environment of FAD between NAD-dependent and O<sub>2</sub>-dependent types of rat liver xanthine dehydrogenase shown by active site probe study // *J. Biol. Chem.* – 1989. – Vol. 264 (27). – P. 15930–15935.
102. *Sanders S., Eisenthal R. S., Harrison R.* NADH oxidase activity of human xanthine oxidoreductase – generation of superoxide anion // *Eur. J. Biochem.* – 1997. – Vol. 245. – P. 541–548.
103. *Maia L., Duarte R. O., Ponces-Freire A. et al.* NADH oxidase activity of rat and human liver xanthine oxidoreductase: potential role in superoxide production // *J. Biol. Inorg. Chem.* – 2007. – Vol. 12 (6). – P. 777–787.
104. *Williamson J. R.* Glycolytic control mechanisms. II. Kinetics of intermediate changes during the aerobic-anoxic transition in perfused rat heart // *J. Biol. Chem.* – 1996. – Vol. 241 (21). – P. 5026–5036.
105. *Berry C., Hare J. M.* Xanthine oxidoreductase and cardiovascular disease: molecular mechanisms and pathophysiological implications // *J. Physiol.* – 2004. – Vol. 555 (3). – P. 589–606.
106. *Varadarajan S. G., An J., Navalija E. et al.* Changes in [Na (+)] (i), compartmental [Ca (2+)], and NADH with dysfunction after global ischemia in intact hearts // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2001. – Vol. 280 (1). – P. H280–H293.
107. *Harris C. M., Massey V.* The reaction of reduced xanthine dehydrogenase with molecular oxygen. Reaction kinetics and measurement of superoxide radical // *J. Biol. Chem.* – 1997. – Vol. 272 (13). – P. 8370–8379.
108. *Zhang Z., Blake D. R., Stevens C. R. et al.* A reappraisal of xanthine dehydrogenase and oxidase in hypoxic reperfusion injury: the role of NADH as an electron donor // *Free Radic. Res.* – 1988. – Vol. 28 (2). – P. 151–164.
109. *Frederiks W. M., Vreeling-Sindelarova H.* Ultrastructural localization of xanthine oxidoreductase activity in isolated rat liver cells // *Acta Histochem.* – 2002. – Vol. 104 (1). – P. 29–37.



110. Rouquette M., Page S., Bryant R. et al. Xanthine oxidoreductase is asymmetrically localized on the outer surface of human endothelial cells in culture // *FEBS Lett.* — 1988. — Vol. 426 (3). — P. 397-401.
111. Radi R., Rubbo H., Bush K., Freeman B. A. Xanthine oxidase binding to glycosaminoglycans: kinetics and superoxide dismutase interactions of immobilized xanthine oxidase-heparin complexes // *Arch. Biochem. Biophys.* — 1997. — Vol. 339 (1). — P. 125-135.
112. Kelley E. E., Trostchansky A., Rubbo H. et al. Binding of xanthine oxidase to glycosaminoglycans limit inhibition by oxypurinol // *J. Biol. Chem.* — 2004. — Vol. 279 (3). — P. 37231-37234.
113. Adachi T., Fukushima T., Usami Y., Hirano K. Binding of human xanthine oxidase to sulphated glycosaminoglycans on the endothelial cell surface // *Biochem. J.* — 1993. — Vol. 289 (2). — P. 523-527.
114. Parks D. A., Granger D. N. Xanthine oxidase: P. biochemistry, distribution, and physiology // *Acta Physiol. Scand.* — 1986. — Vol. 548 (Suppl). — P. 87-99.
115. Jarasch E. D., Bruder G., Heid H. W. Significance of xanthine oxidase in capillary endothelial cells // *Acta Physiol. Scand.* — 1986. — Vol. 548 (Suppl). — P. 39-46.
116. Guerciolini R., Szumlanski C., Weinshilboum R. M. Human liver xanthine oxidase: nature and extent of individual variation // *Clin. Pharmacol. Ther.* — 1991. — Vol. 50 (6). — P. 663-672.
117. Abadeh S., Killackey J., Bendouberta M., Harrison R. Purification and partial characterization on xanthine oxidase from human milk // *Biochim. Biophys. Acta.* — 1992. — Vol. 1117 (1). — P. 25-32.
118. Godberg B., Sanders S., Harrison R. et al. > or = 95% of xanthine oxidase in human milk is present as the demolybdo form, lacking molybdopterin // *Biochem. Soc. Trans.* — 1997. — Vol. 25 (3). — P. 519S.
119. Poss W. B., Huecksteadt T., Panus P. C. et al. Regulation of xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase activity by hypoxia // *Am. J. Physiol.* — 1996. — Vol. 270 (6 Pt1). — P. L941-L946.
120. Terada L. S., Piermattei D., Shibao G. N. et al. Hypoxia regulates xanthine dehydrogenase activity at pre- and post-translational levels // *Arch. Biochem. Biophys.* — 1997. — Vol. 348 (1). — P. 163-168.
121. Kayyali U. S., Donaldson C., Huang H. et al. Phosphorylation of xanthine dehydrogenase/oxidase in hypoxia // *J. Biol. Chem.* — 2001. — Vol. 276 (17). — P. 14359-14365.
122. Brown J. M., Terada L. S., Grosso M. A. et al. Xanthine oxidase produces hydrogen peroxide which contributes to reperfusion injury of ischemic, isolated rat hearts // *J. Clin. Invest.* — 1988. — Vol. 81 (4). — P. 1297-1301.
123. Ferdinandy P., Panas D., Schulz R. Peroxynitrite contributes to spontaneous loss of cardiac efficiency in isolated working rat hearts // *Am. J. Physiol.* — 1999. — Vol. 267 (6). — P. H1861-H1867.
124. Weinbroum A., Nielsen V. G., Tan S. et al. Liver ischemia-reperfusion pulmonary permeability in rat: role of circulating xanthine oxidase // *Am. J. Physiol.* — 1995. — Vol. 268 (6 Pt1). — P. G988-G996.
125. Godberg B. L. J., Doel J. J., Durgan J. et al. A new route to peroxynitrite: a role for xanthine oxidoreductase // *FEBS Lett.* — 2000. — Vol. 475 (2). — P. 93-96.
126. Millar T. M., Steven C. R., Benjamin N. Xanthine oxidoreductase catalyses the reduction of nitrates and nitrite to nitric oxide under hypoxic conditions // *FEBS Lett.* — 1998. — Vol. 427 (2). — P. 225-228.

127. Li H., Samouilov A., Liu X., Zweier J. L. Characterization of the magnitude and kinetics of xanthine oxidase-catalyzed nitrate reduction: evaluation of its role in nitrite and nitric oxide generation in anoxic tissues // *Biochemistry*. – 2003. – Vol. 42 (4). – P. 115–1159.
128. Zhang Z., Naughton D., Winyard P. G. et al. Generation of nitric oxide by a nitrite reductase activity of xanthine oxidase: a potential pathway for nitric oxide formation in the absence of nitric oxide synthase activity // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1998. – Vol. 249 (3). – P. 767–772.
129. Godberg B. L., Doel J. J., Sapkota G. P. et al. Reduction of nitrite to nitric oxide catalyzed by xanthine oxidoreductase // *J. Biol. Chem.* – 2000. – Vol. 275 (11). – P. 7757–7763.
130. Li H., Samouilov A., Liu X., Zweier J. L. Characterization of the magnitude and kinetics of xanthine oxidase-catalyzed nitrite reduction: evaluation of its role in nitric oxide generation in anoxic tissues // *J. Biol. Chem.* – 2001. – Vol. 276 (27). – P. 24482–24489.
131. Doel J. J., Godberg B. L., Eisenthal R., Harrison R. Reduction of organic nitrates catalyzed by xanthine oxidoreductase under anaerobic conditions // *Biochem. Biophys. Acta.* – 2001. – Vol. 1527 (1–2). – P. 81–87.
132. Doel J. J., Goldberg B. L., Goult T. A. et al. Reduction of organic nitrites to nitric oxide catalyzed by xanthine oxidase: possible role in metabolism of nitrovasodilators // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2000. – Vol. 270 (3). – P. 880–885.
133. Millar T. M. Peroxynitrite formation from the simultaneous reduction of nitrite and oxygen by xanthine oxidase // *FEBS Lett.* – 2004. – Vol. 562 (1–3). – P. 129–133.
134. Zweier J. L., Li H., Samouilov A., Liu X. Mechanisms of nitrite reduction to nitric oxide in the heart and vessel wall // *Nitric Oxide*. – 2010. – Vol. 22 (2). – P. 83–90.
135. Casadei B. The emerging role of neuronal nitric oxide synthase in the regulation of myocardial function // *Exp. Physiol.* – 2006. – Vol. 91 (6). – P. 943–955.
136. Koppenol W. H. The basic chemistry of nitrogen monoxide and peroxynitrite // *Free Radic. Biol. Med.* – 1998. – Vol. 25 (4–5). – P. 385–391.
137. Gladden J. D., Zelickson B. R., Wei C. C. et al. Novel insights into interactions between mitochondria and xanthine oxidase in acute cardiac volume overload // *Free Radic. Biol. Med.* – 2011. – Vol. 51 (11). – P. – 1975–1984.
138. Rus D. A., Sastre J., Vina J., Pallardo F. V. Induction of mitochondrial xanthine oxidase activity during apoptosis in the rat mammary gland // *Front Biosci.* – 2007. – Vol. 12. – P. 1184–1189.
139. Godin D. V., Bhimji S., McNeil J. H. Effects of allopurinol pretreatment on myocardial ultrastructure and arrhythmias following coronary occlusion and reperfusion // *Virchows Arch. B Cell. Pathol. Incl. Mol. Pathol.* – 1986. – Vol. 52 (4). – P. 327–341.
140. Liu P. G., He S. Q., Zhang Y. H., Wu J. Protective effects of apocynin and allopurinol on ischemia/reperfusion liver injury in mice // *World J. Gastroenterol.* – 2008. – Vol. 14 (18). – P. 2832–2837.
141. Peglow S., Toledo A. H., Anaya-Prado R. et al. Allopurinol and xanthine oxidase inhibitor in liver ischemia reperfusion // *J. Hepatobiliary Pancreat. Sci.* – 2011. – Vol. 18 (2). – P. 137–146.
142. Rajendra N. S., Ireland S., George J. et al. Mechanistic insights into the therapeutic use of high-dose allopurinol in angina pectoris // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2011. – Vol. 58 (8). – P. 820–828.

143. *Dedkova E. N., Blatter L. A.* Characteristics and function of cardiac mitochondrial nitric oxide synthase // *J. Physiol.* – 2009. – Vol. 587 (4). – P. 851–872.
144. *Gonzalez D. R., Treur A. V., Ducle R. A.* Neuronal nitric oxide synthase in heart mitochondria: matter of life or death // *J. Physiol.* – 2009. – Vol. 587 (12). – P. 2719–2720.
145. *Brown G. C.* Control of respiration and ATP synthesis in mammalian mitochondria and cells // *Biochem. J.* – 1992. – Vol. 284 (1). – P. 1–13.
146. *Ignarro L. J.* Nitric oxide: biology and pathobiology. – 2<sup>nd</sup> ed. – Elsevier Science, 2009. – 845 p.
147. *Hayens V., Elfering S., Traaseth N., Giulivi C.* Mitochondrial nitric-oxide synthase: enzyme expression, characterization, and regulation // *J. Bioenerg. Biomembr.* – 2004. – Vol. 36 (4). – P. 341–346.
148. *Alvarez S., Evelson P. A.* Nitric oxide and oxygen metabolism in inflammatory conditions: sepsis and exposition to polluted ambient // *Frnt Biosci.* – 2007. – Vol. 12. – P. 964–974.
149. *Brown G. C., Borutaite V.* Inhibition of mitochondrial respiratory complex I by nitric oxide, peroxyxynitrite and S-nitrosothiols // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2004. – Vol. 1658 (1–2). – P. 44–49.
150. *Tan D. X., Manchester L. C., Terron M. P.* et al. One molecule, many derivatives: a never-ending interaction of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species? // *J. Pineal Res.* – 2007. – Vol. 42 (1). – P. 28–42.
151. *Hardeland R., Coto-Montes A.* New vistas on oxidative damage and aging // *Open Biol. J.* – 2010. – Vol. 3. – P. 39–52.
152. *Hardeland R., Cardinali D. P., Srinivasan V.* et al. Melatonin: a pleiotropic, orchestrating regulator molecule // *Progr. Neurobiol.* – 2011. – Vol. 93 (3). – P. 350–384.
153. *Tan D. X., Chen L. D., Poeggeler B.* et al. Melatonin: a potent, endogenous hydroxyl radical scavenger // *Endocr. J.* – 1993. – Vol. 1. – P. 57–60.
154. *Reiter R. J., Tan D. X., Leon J.* et al. When melatonin gets on your nerves. – P. its beneficial effects in experimental models of stroke // *Exp. Biol. Med.* – 2005. – Vol. 230 (2). – P. 104–117.
155. *Pieri C., Marra M., Moroni F.* et al. Melatonin: a peroxy radical scavenger more effective than vitamin E // *Life Sci.* – 1994. – Vol. 55 (15). – P. PL271–PL276.
156. *Bromme H. J., Morke W., Peschke D.* et al. Scavenging effect of melatonin on hydroxyl radicals generated by alloxan // *J. Pineal Res.* – 2000. – Vol. 29 (4). – P. 201–208.
157. *Li X. J., Gu J., Lu S. D., Sun F. Y.* Melatonin attenuates MPTP-induced dopaminergic neuronal injury associated with scavenging hydroxyl radical // *J. Pineal Res.* – 2002. – Vol. 32 (1). – P. 42–52.
158. *Sofic E., Rimpapa Z., Kundorovic Z.* et al. Antioxidant capacity of the neurohormone melatonin // *J. Neurol. Transm.* – 2005. – Vol. 112 (3). – P. 349–358.
159. *Zhou G., Kawata T., Furusawa Y.* et al. Protective effects of melatonin against low and high-LET irradiation // *J. Radiat. Res.* – 2006. – Vol. 47 (2). – P. 157–181.
160. *Qi W., Reiter R. J., Tan D. X.* et al. Chromium (III)-induced 8-hydroxydeoxyguanosine in DNA and its reduction by antioxidants: comparative effects of melatonin, ascorbate, and vitamin E // *Environ. Health Perspect.* – 2000. – Vol. 108 (5). – P. 399–402.
161. *Reiter R. J., Tan D. X., Manchester L. C., El-Sawi M.* Melatonin reduces oxidant damage and promotes mitochondrial respiration: implications for aging // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – USA. – 2002. – Vol. 959. – P. 238–250.

162. Leon J., Acuna-Castroviejo D., Sainz R. M. et al. Melatonin and mitochondrial function // *Life Sci.* — 2004. — Vol. 75 (7). — P. 765–790.
163. Leon J., Acuna-Castroviejo D., Escames G. et al. Melatonin mitigates mitochondrial malfunction // *J. Pineal Res.* — 2005. — Vol. 38 (1). — P. 1–9.
164. Entrera A., Camacho M. E., Carrion M. D. et al. Kynurenamines as neural nitric oxide synthase inhibitors // *J. Med. Chem.* — 2005. — Vol. 48 (26). — P. 8174–8181.
165. Leon J., Escames G., Rodriguez M. I. et al. Inhibition of neuronal nitric oxide synthase activity by N1-acetyl-5-methoxykynuramine, a brain metabolite of melatonin // *J. Neurochem.* — 2006. — Vol. 98 (6). — P. 2023–2033.
166. Hardeland R., Tan D. X., Reiter R. J. Kynuramines, metabolites of melatonin and other indoles: the resurrection of an almost forgotten class of biogenic amines // *J. Pineal Res.* — 2009. — Vol. 47 (2). — P. 109–126.
167. Escames G., Lopez L. C., Tapias V. et al. Melatonin counteracts inducible mitochondrial nitric oxide synthase-dependent mitochondrial dysfunction in skeletal muscle of septic mice // *J. Pineal Res.* — 2006. — Vol. 40 (1). — P. 71–78.
168. Lopez L. C., Escames G., Tapias V. et al. Identification of an inducible nitric oxide synthase in diaphragm mitochondria from septic mice: its relation with mitochondrial dysfunction and prevention by melatonin // *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* — 2006. — Vol. 38 (2). — P. 267–278.
169. Reiter R. J., Paredes S. D., Korkmaz A. et al. Melatonin combats molecular terrorism at the mitochondrial level // *Interdisc. Toxicol.* — 2008. — Vol. 1 (2). — P. 137–149.
170. Srinivasan V., Spence D. W., Pandi-Perumal S. R. et al. Melatonin in mitochondrial dysfunction and related disorders // *Int. J. Alzheimers Dis.* — 2011. — P. 320–326.
171. Lowes D. A., Almawash A. M., Webster N. R. et al. Melatonin and structurally similar compounds have different effects on inflammation and mitochondrial function in endothelial cells under conditions mimicking sepsis // *Br. J. Anaesth.* — 2011. — Vol. 107 (2). — P. 193–201.
172. Messner M., Hardeland R., Rodenbeck G., Huether G. Tissue retention and subcellular distribution of continuously infused melatonin in rats under near physiological conditions // *J. Pineal Res.* — 1998. — Vol. 25 (4). — P. 251–259.
173. Lopez A., Garcia J. A., Escames G. et al. Melatonin protects the mitochondria from oxidative damage reducing oxygen consumption, membrane potential, and superoxide anion production // *J. Pineal Res.* — 2009. — Vol. 46 (2). — P. 188–198.
174. Hardeland R. Antioxidative protection by melatonin: multiplicity of mechanisms from radical detoxification to radical avoidance // *Endocrine.* — 2005. — Vol. 27 (2). — P. 119–130.
175. Petrosillo G., Venosa N., Pistolesse M. et al. Protective effect of melatonin against mitochondrial dysfunction associated with cardiac ischemia-reperfusion: role of cardiolipin // *FASEB J.* — 2006. — Vol. — 20 (2). — P. 269–276.
176. Luchetti F., Canonico B., Mannello F. et al. Melatonin reduces early changes in intramitochondrial cardiolipin during apoptosis in U937 cell line // *Toxicol. in Vitro.* — 2007. — Vol. 21 (2). — P. 293–301.
177. Petrosillo G., Fattoretti P., Matera M. et al. Melatonin prevents age-related mitochondrial dysfunction in rat brain via cardiolipin protection // *Rejuvenation Res.* — 2008. — Vol. 11 (5). — P. 935–943.

178. *Hardeland R., Poeggeler B., Pappola M. A.* Mitochondrial actions of melatonin – an endeavor to identify their adaptive and cytoprotective mechanisms // *Adh. Sachs. Akad. Wiss. Math.-Nat. KI. Endocrinologie.* – 2009. – Vol. Pt4 (65). – P. 14–31.

179. *Hardeland R.* Melatonin, mitochondrial electron flux and leakage. – P. recent findings and resolution of contradictory results // *Adv. Stud. Biol.* – 2009. – Vol. 1 (5). – P. – 207–230.

180. *Paradies G., Petrosillo G., Paradies V. et al.* Melatonin, cardiolipin and mitochondrial bioenergetics in health and disease // *J. Pineal Res.* – 2010. – Vol. 48 (4). – P. 297–310.

181. *Martin M., Macias M., Escames G. et al.* Melatonin but not vitamins C and E maintains glutathione homeostasis in t-butyl hydroperoxide-induced mitochondrial oxidative stress // *FASEB J.* – 2000. – Vol. 14 (12). – P. 1677–1679.

182. *Reiter R. J., Acuna-Castroviejo D., Tan D. X., Burkhardt S.* Free radical-mediated molecular damage. Mechanisms for the protective actions of melatonin in the central nervous system // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2001. – Vol. 939. – P. 200–215.

183. *Okatani Y., Wakatsuki A., Reiter R. J. et al.* Protective effect of melatonin against mitochondrial injury induced by ischemia and reperfusion of rat liver // *Eur. J. Pharmacol.* – 2003. – Vol. 469 (1–3). – P. 145–152.

184. *Acuna-Castroviejo D., Escames G., Rodriguez M. I., Lopez L. C.* Melatonin role in the mitochondrial function // *Front. Biosci.* – 2007. – Vol. 12. – P. 947–963.

185. *Rodriguez M. I., Escames G., Lopez L. C. et al.* Improved mitochondrial function and increased life span after chronic melatonin treatment in senescent prone mice // *Exp. Gerontol.* – 2008. – Vol. 43 (8). – P. 749–756.

186. *Winiarska K., Fraczyk T., Melinska D. et al.* Melatonin attenuates diabetes-induced oxidative stress in rabbits // *J. Pineal. Res.* – 2006. – Vol. 40 (2). – P. 168–176.

187. *Gilad E., Wong H. R., Zingarelli B. et al.* Melatonin inhibits expression of the inducible isoform of nitric oxide synthase in murine macrophages: role of inhibition of NF- $\kappa$ B activation // *FASEB J.* – 1998. – Vol. 12 (9). – P. 685–693.

188. *Nova M., Quiroz Y., Vaziri N., Rodriguez-Iturbe B.* Melatonin reduces renal interstitial inflammation and improves hypertension in spontaneously hypertensive rats // *Am. J. Physiol.* – 2003. – Vol. 248 (3). – P. F447–F454.

189. *Deng W. G., Tang S. T., Tseng H. P., Wu K. K.* Melatonin suppresses macrophage cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase expression by inhibiting p52 acetylation and binding // *Blood.* – 2006. – Vol. 108 (2). – P. 518–524.

190. *Quiroz Y., Ferrebuz A., Romero F. et al.* Melatonin ameliorates oxidative stress, inflammation, proteinuria, and progression of renal damage in rats with renal mass reduction // *Am. J. Physiol.* – 2007. – Vol. 249 (2). – P. F336–F344.

191. *Esposito E., Cuzzocrea S.* Antiinflammatory activity of melatonin in central nervous system // *Curr. Neuropharmacol.* – 2010. – Vol. 8 (3). – P. 228–242.

192. *Murakami Y., Yuhara K., Takada N. et al.* Effect of melatonin on cyclooxygenase-2 expression and Nuclear Factor- $\kappa$ B activation in RAW264.7 macrophage-like cells stimulated with fimbriae of *Porphyronas gingivalis*. In vivo // *Int. J. Exp. Clin. Pathophysiol. Drug Res.* – 2011. – Vol. 25 (4). – P. 641–647.

193. *Konakchieva R., Mitev Y., Almeida O. F. X., Patchev V. K.* Chronic melatonin treatment and the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in the rat: attenuation of the

secretory response to stress and effects on hypothalamic neuropeptide content and release // *Biol. Cell.* – 1997. – Vol. 89 (9). – P. 587–596.

194. *Konakchieva R., Mitev Y., Almeida O. F. X.* et al. Chronic melatonin treatment counteracts glucocorticoid-induced dysregulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the rat // *Neuroendocrinol.* – 1998. – Vol. 67 (2). – P. 171–180.

195. *Sejian V., Srivastava S.* Effects of melatonin on adrenal cortical functions of indian goats under thermal stress // *Vet. Med. Inter.* – 2010. – Vol. doi. – P. 10.4061/2010/348919.

196. *Maestroni G. J. M.* The immunotherapeutic potential of melatonin // *Exp. Opin. Invest. Drugs.* – 2001. – Vol. 10 (3). – P. 467–476.

197. *Guerrero J. M., Reiter R. J.* Melatonin-immune system relationships // *Curr. Top Med. Chem.* – 2002. – Vol. 2 (2). – P. 167–179.

198. *Carrillo-Vico A., Guerrero J. M., Lardone P. J., Reiter R. J.* A review of the multiple actions of melatonin on the immune system *Endocrine.* – 2005. – Vol. 27 (2). – P. 189–200.

199. *Srinivasan V., Maestroni G. J. M., Cardinali D. P.* et al. Melatonin, immune function and aging // *Immunity ageing.* – 2005. – Vol. 2:17. doi. – P. 10.1186/1742-4933-2-17.

200. *Carrillo-Vico A., Reiter R. J., Lardone P. J.* et al. The modulatory role of melatonin on immune responsiveness // *Curr. Opin. Investig. Drugs.* – 2006. – Vol. 7 (5). – P. 423–431.

201. *Radogna F., Diederich M., Ghibelli L.* Melatonin: a pleiotropic molecule regulating inflammation // *Biochem. Pharmacol.* – 2010. – Vol. 80 (12). – P. 1844–1852.

202. *Shirazi A., Haddadi G. H., Ghazi-Khansari M.* et al. Evaluation of melatonin for prevention of radiation myelopathy in irradiated cervical spinal cord // *Cell J. (Yakhten).* – 2009. – Vol. 11 (1). – P. 43–48.

203. *Shirazi A., Haddadi G. H., Asadi-Amoli F.* et al. Radioprotective effect of melatonin in reducing oxidative stress in rat lenses // *Cell J. (Yakhten).* – 2011. – Vol. 13 (2). – P. 79–82.

204. *Sanches-Barcello E. J., Cos S., Fernandez R., Mediavella M. D.* Melatonin and mammary cancer: a short review // *Endocr. Related Cancer.* – 2003. – Vol. 10 (2). – P. 153–159.

205. *Jung B., Ahmad N.* Melatonin in cancer management: progress and promise // *Cancer Res.* – 2006. – Vol. 66 (20). – P. 9789–9793.

206. *Musatov S. A., Anisimov V. N., Andre V.* et al. Modulatory effects of melatonin on genotoxic response of reference mutagens in the Ames test and the comet assay // *Mutat. Res.* – 1998. – Vol. 417 (2–3). – P. 75–84.

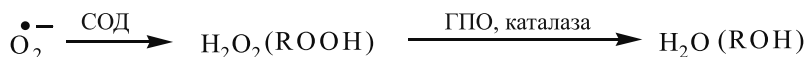
207. *Leon-Blanco M. M., Guerrero J. M., Reiter R. J.* et al. Melatonin inhibits telomerase activity in the MCF-7 tumor cell line both in vivo and in vitro // *J. Pineal Res.* – 2003. – Vol. 35 (3). – P. 204–211.

208. *Anisimov V. N., Alimova I. N., Baturin D. A.* et al. Dose-dependent effect of melatonin on life span and spontaneous tumor incidence in female SHR mice // *Exp. Gerontol.* – 2003. – Vol. 38 (4). – P. 449–461.

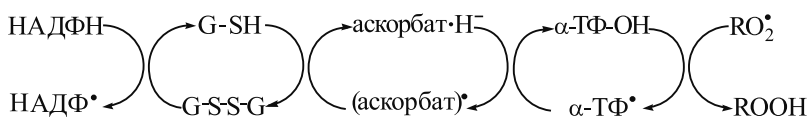
209. *Anisimov V. N., Popovich I. G., Zobezhinski M. A.* et al. Melatonin as antioxidant, geroprotector and anticarcinogen // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2006. – Vol. 1757 (5–6): 573–589.

## 1.5. ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ ПРОЯВЛЕНИЙ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА

И ферментативные, и неферментативные составляющие звеньев антиоксидантной защиты эффективно работают только в соответствующих комплексах. Ферментативное звено обеспечивает поэтапное восстановление кислорода:



Для низкомолекулярных антиоксидантов также существует своеобразная цепь переноса электронов, при функционировании которой образуются все менее и менее реакционно-способная форма радикала:



Целесообразность существования таких цепей транспорта электронов объясняется необходимостью ступенчатого высвобождения энергии, выделяющейся при восстановлении прооксидантов, а также большей надежностью и функциональной гибкостью многозвенных механизмов антирадикальной и антиперекисной защиты.

Теперь, касаясь вопросов фармакологической коррекции проявлений оксидативного стресса, исходя из вышеизложенного, можно сформулировать ряд положений.

1. Поддержание параметров биосред организма в рамках значений, обеспечивающих нормальное протекание основных биохимических и физиологических процессов:

- коррекция показателей кислотно-основного состояния (обеспечение оптимальных условий для реализации активности ферментных систем и функционирования молекулярных механизмов гомеостатирования ионов металлов переменной валентности);
- создание термодинамического запрета на существование прооксидантов вследствие смещения редокс-статуса биосред под влиянием восстановителей (внутривенное введение стехиометрического антиоксиданта натрия тиосульфата, предотвращающего, помимо прочего, и редокс-зависимую конверсию ксантиноксидоредуктазы в оксидазную форму);
- субстратное обеспечение окислительного фосфорилирования и неферментативной детоксикации супероксидного анион-радикала (проведение глюкозоинсулиновой терапии).

2. При назначении антиоксидантных препаратов следует исходить из того, что:

- эффективно только комплексное применение водо-, жирорастворимых витаминов-антиоксидантов (аскорбиновая кислота, ретинол,  $\alpha$ -токоферол) и восстанавливающих их тиолов (унитиол, тиоктовая кислота) в определенном молярном соотношении;
- для восполнения убыли глутатиона, центрального звена ферментативной и неферментативной детоксикации прооксидантов, интенсивно

расходуемого при оксидативном стрессе в реакциях глутатионилирования и конъюгирования, важно обеспечение стимулирования синтеза данного антиоксидантного пептида (назначение аминокислоты-прекурсора — N-ацетилцистеина и мелатонина, способного увеличивать экспрессию лимитирующую синтез глутатиона  $\gamma$ -глутамилцистеинсинтазы);

- с учетом значимости и роли селеноэнзимов в антиоксидантной защите организма при оксидативном стрессе весьма целесообразно стимулирование и мимикрирование активности селензависимых ферментов (назначение селенита натрия, эбселена);
- для блокирования ассоциированной с ксантиноксидоредуктазой продукции прооксидантов целесообразно ингибирование ее оксидазно-редуктазной активности (назначение аллопуринола и после получения разрешения на клиническое применение — одного из Mn-порфиринов) и обеспечение делокализации данного фермента посредством солубилизации (гепаринотерапия);
- важное направление антиоксидантной терапии — хелатирование ионов металлов переменной валентности и делокализация катионов переходных металлов из зоны повреждения (назначение селенита натрия, эмоксипина сукцинат, тиоктовой кислоты, десфералотерапии в сочетании с плазмаферезом или в сопровождении операции плазмообмена).

3. Исходя из общепринятых представлений о том, что при оксидативном стрессе наиболее значимым источником и мишенью повреждающего действия прооксидантов являются митохондрии, активность которых стимулируется ионами кальция, эффективными направлениями антиоксидантной терапии предстают:

- поддержание кальциевого гомеостаза в клетке (ингибирование рианодинового рецептора циклоспорином А);
- уменьшение утечки электронов с комплексов дыхательной цепи (мелатонин), блокирование активности митохондриальных ксантиноксидоредуктазы (аллопуринол) и NO-синтазы (мелатонин);
- хелатирование катионов переходных металлов в митохондриальном матриксе (эмоксипина сукцинат, тиоктовая кислота);
- ингибирование формирования митохондриальной транзитной проницаемости (циклоспорин А, акатинол мемантин).

Понимание содержательной сущности процесса предоставляет потенциальную возможность управления явлением. Мы надеемся, что изложенное окажется полезным для специалистов.



## ГЛАВА 2. СЕПСИС: БУНТ НА ТОНУЩЕМ КОРАБЛЕ (ОБОСНОВАНИЕ ПОДХОДОВ К ТЕРАПИИ)

Сепсис – одно из самых грозных и распространенных осложнений в клиниках терапевтического и хирургического профилей. В течение только 2001 года в США сепсис диагностирован у 751 000 пациентов [1, 2], в 29% случаев (215 000 больных) он закончился летальным исходом [2]. Согласно статистическим данным, в США сепсис занимает десятое место среди причин смерти при ежегодном увеличении заболеваемости и смертности [3, 4]. В течение года в Соединенных Штатах Америки регистрируется 50–95 случаев тяжелого сепсиса на 100 000 населения при увеличении числа заболевших в сравнении с предыдущим периодом на 9% [5]. Предполагается, что 2010 году в США будет зарегистрировано 934 000 случаев сепсиса, а в 2020 году ожидается 1 100 000 пациентов с септическими состояниями [2]. Считается, что в большинстве случаев сепсис обусловлен эндогенной инфекцией: грамотрицательной микрофлорой в 25–30% случаев, грамположительными микроорганизмами в 30–50%, полимикробными ассоциациями в 11–19%, небактериальными инфекционными агентами (грибки, вирусы, паразиты) в 1–4% наблюдений. Однако в 30–50% случаев сепсиса какой-либо инфекционный агент выделить не удастся [6–9]. К великому разочарованию специалистов отделений интенсивной терапии, постоянно растущий арсенал антибактериальных препаратов не в состоянии радикально повлиять на исходы септических состояний. При септическом шоке летальность была на уровне 41% в 1909 г., 40% в 1985 г. и 40–60% в конце XX столетия [2, 5, 10], т. е. за последние сто лет не наметилось даже тенденции к улучшению [11–13].

Синдром системной воспалительной реакции (Systemic Inflammatory Response Syndrome – SIRS) и сепсис рассматривались ранее и рассматриваются в настоящее время в качестве «гнионо-резорбтивной лихорадки» с наличием или без наличия явного источника инфекции [14–17]. Это находит отражение в авторских определениях сепсиса:

- «Сепсис – генерализованная, спонтанно необратимая форма инфекционного процесса, ведущая к срыву механизмов защиты и полной блокаде иммунной системы» [18];
- «Сепсис – это генерализованный (системный) ответ на инфекцию...» [19];
- «Сепсис – инфекционная болезнь в иммунонедостаточном организме» [20];
- «Сепсис – клинический синдром, который запускается и ассоциируется с инфекцией, и характеризуется повреждением органов и тканей, вызванных комплексом биогенных веществ, продуцируемых самим макроорганизмом» [21] и официальных дефинициях:
- «Сепсис – синдром системной воспалительной реакции (SIRS) на фоне инфекции» [22];
- «Сепсис – это патологический процесс, в основе которого лежит реакция организма в виде генерализованного (системного) воспаления на инфекцию различной природы (бактериальную, вирусную, грибковую) [23]. Именно поэтому основу традиционной профилактики и терапии данных угрожающих жизни состояний составляет антибиотикотерапия, дополняемая назначением патогенетических средств и процедур [12, 24–27].

Эффективность профилактики/терапии SIRS/сепсиса путем подавления инфекции и восстановления протективно-репаративных функций иммунной системы трудно оценить положительно. Синдром системной воспалительной реакции и сепсис — актуальнейшие медико-биологические проблемы современности, настоятельно требующие поиска новых путей и подходов. И поиск этот осуществляется чрезвычайно интенсивно. Только за период с 2005 по 2008 год в мире зарегистрировано несколько сотен патентов, касающихся вопросов профилактики, диагностики и лечения септических состояний [26]. Однако обилие патентов следует оценивать пока только как показатель пристального внимания к проблеме и свидетельство отсутствия эффективных решений.

Нами предлагается новое видение патогенеза синдрома системной воспалительной реакции и септических состояний. Основные положения новой концепции патогенеза SIRS/сепсиса заключаются в том, что SIRS — проявления неадекватной реакции иммунной системы на цитолиз (присутствие бактериальных антигенов), а сепсис — проявления стратегии выживания комменсалов аберрантного кишечного микробиома в условиях крайнего физиологического неблагополучия макроорганизма. Изменение представлений о патогенетических механизмах формирования SIRS/сепсиса предполагает новое видение путей и способов профилактики и терапии данных патологических состояний.

Цитолиз — неконтролируемое разрушение клеток и находящихся в них митохондрий. Каждая эукариотическая клетка содержит от нескольких сотен до нескольких тысяч органелл данного типа [28, 29]. Митохондрии — внутриклеточные органеллы, являющиеся потомками древних эндосимбионтных бактерий [30], несущие родовые признаки граммотрицательных прокариот. В частности, митохондриальная ДНК, как и ДНК бактерий, имеет неметилированные последовательно расположенные азотистые основания цитозин и гуанин (СрG-последовательности) [31]. В отличие от этого, в геноме эукариот цитозин СрG-динуклеотидов обычно метилирован [32]. Появление в биосредах организма млекопитающих фрагментов митохондриальной ДНК, имеющих неметилированные СрG-последовательности, распознается рецепторами TLR9 (локализованы в лизосомах [33, 34]) полиморфноядерных нейтрофилов, воспринимается как присутствие (инвазия) бактерий и сопровождается их активированием [35]. Активирование нейтрофилов фрагментами бактериальной (митохондриальной) ДНК проявляется стимуляцией экспрессии провоспалительных медиаторов [36, 37].

Другими структурными компонентами матрикса митохондрий, не встречающимися в физиологических условиях в цитозоле эукариотических клеток и биосредах многоклеточных организмов, которые характерны только для бактерий, являются формил-пептиды. Трансляция (синтез белков) в митохондриях, как и у прокариот, всегда начинается с особой, модифицированной аминокислоты — N-формилметионина. Эукариотическими клетками эта аминокислота при синтезе полипептидных цепей не используется, поэтому наличие N-формилметионина на конце полипептидной цепи — надежный индикатор присутствия бактерий. N-формилпептиды распознаются цитозольным рецептором FPR1 (Formyl Peptide Receptor 1 — FPR1) клеток иммунной системы (нейтрофилов), что резко стимулирует их активность [38, 39].

Взаимодействие неметилированных СрG-содержащих фрагментов митохондриальной ДНК и формил-пептидов с рецепторами TLR9 и FPR1 соответственно

сопровождается активированием фосфолипазы C (PLC<sub>3</sub>), циклазы (гидролазы) АДФ-рибозы и, как следствие, возрастанием в цитозоле нейтрофилов содержания таких вторичных мессенджеров, как инозитол-1,4,5-трифосфат (Ins3P) и циклическая АДФ-рибоза (сADPR) [40–42]. Такая динамика Ins3P и сADPR обуславливает увеличение уровня ионов кальция в цитозоле фагоцитов [31, 43].

Относительно небольшое количество кальция («запальный» пул), проникшего в цитозоль клетки через плазмомембранные кальциевые каналы, амплифицируется выделением внутриклеточного Ca<sup>2+</sup> из цистерн эндоплазматического ретикулума. Кальций из эндоплазматических цистерн может мобилизовываться через локализованные в эндомембранах различные типы Ca<sup>2+</sup>-каналов: рианодиновые рецепторы RyRs (Ryanodine Receptora – RyRs), инозитол-1,4,5-трифосфат-чувствительные рецепторы Ins3PRs (Inositol 1,4,5-trisphosphate Receptors – Ins3PRs) и NAADP-зависимые рецепторы эндосом и лизосом NAADPRs (Nicotinic Acid Adenine Dinucleotide Phosphate Receptors – NAADPRs) [44–49]. В отличие от Ins3PRs и NAADPRs, стимулируемых специфическими лигандами – инозитол-1,4,5-трифосфатом и фосфатом адениндинуклеотида никотиновой кислоты соответственно, рианодиновые рецепторы переходят в открытое состояние под влиянием ионов кальция, играющих роль сигнальной субстанции [50, 51]. Ионизированный кальций, при положительной динамике уровня данного двухвалентного катиона в цитозоле клеток, активируя RyRs, усиливает «запальный» пул сигнального катиона. В протекании процесса стимуляции полиморфноядерных нейтрофилов значимо, что эффективность инозитол-1,4,5-трифосфата как лиганда Ins3PRs также зависит от уровня Ca<sup>2+</sup> в цитозоле клетки [52, 53]. Под влиянием ионов кальция Ins3PRs сенситизируются к воздействию инозитол-1,4,5-трифосфата [54] и при достижении определенной концентрации Ca<sup>2+</sup> в цитозоле Ins3PRs могут переходить в открытое состояние даже в условиях фонового содержания Ins3P в клетке [52]. В свою очередь, состояние RyRs контролируется (сенситизируется) циклической АДФ-рибозой [55, 56]. В отличие от RyRs и Ins3PRs, функциональное состояние NAADPRs не зависит от уровня ионизированного кальция в цитозоле [57]. В условиях массивного цитолиза, вероятно, «запальный» пул Ca<sup>2+</sup> из эндосом (лизосом), после взаимодействия формил-пептидов и метилированных CpG-содержащих фрагментов митохондриальной ДНК с соответствующими патогенраспознающими рецепторами, посредством стимуляции RyRs и сенситизации Ins3PRs, обеспечивает увеличение уровня ионизированного кальция в цитозоле полиморфноядерных нейтрофилов.

Повышение уровня цитозольного Ca<sup>2+</sup> сопровождается стимуляцией активности фагоцитов [31, 43]. Активирование полиморфноядерных нейтрофилов при массивном цитолизе опосредуется кальцинейрином – серин/треониновой фосфатазой, приобретающей фосфатазную активность под влиянием Ca<sup>2+</sup>/кальмодулина [58, 59], обеспечивающего экспонирование активного центра каталитического домена энзима [60], и кальцийзависимыми киназами, трансформирующими ядерные факторы транскрипции в их активные формы [61–64]. Активация ядерных факторов транскрипции (AP-1, NF-AT, NF-κB, IRF3) сопровождается стимуляцией экспрессии:

- провоспалительных цитокинов (IL-1, IL-6, IL-10, IL-12, TNF, IFN $\gamma$ , IFN $\beta$ ), что проявляется гипертермией, тахипноэ, тахикардией, неврологической симптоматикой и повреждением эндотелия сосудов;

- хемокинов (IL-8, MIP-1/2, MCP-1/2), стимулирующих миграционную активность нейтрофилов и продукцию прооксидантов макрофагами;
- молекул адгезии (ICAM-1, VCAM-1, E-selectin), способствующих увеличению проницаемости эндотелиальной выстилки сосудов;
- факторов коагуляции (TF, PAI-1, Factor VIII), формирующие ДВС-синдром;
- индуцибельной изоформы NO-синтетазы, что сопровождается гиперпродукцией оксида азота и проявляется дисфункцией сердечно-сосудистой системы.

Кроме того, стимулированные формил-пептидами и фрагментами митохондриальной ДНК, полиморфноядерные нейтрофилы обильно секретируют матриксные металлопротеиназы (MMP-8, MMP-10), субстратами которых являются биополимеры внеклеточного матрикса и ингибиторы секреторных протеиназ [65–67]. Активированные фагоциты в пессимальном количестве генерируют прооксиданты, повреждающие структурные элементы сосудов и тканей [68].

Провоспалительные цитокины, в свою очередь, стимулируют синтез *de novo* фосфолипазы A2 (PLA2) и циклооксигеназы 2 (COX-2) (под влиянием IL-1, TNF $\alpha$  уровень COX-2 мРНК увеличивается в 40 раз) [69, 70]. В условиях повышенного уровня цитозольного кальция фосфолипаза A2 транслоцируется к внутриклеточным мембранам и селективно расщепляет фосфолипиды, в состав которых входит арахидоновая кислота [71, 72]. Арахидоновая кислота, выделяемая фосфолипазой A2 из sn-2 позиции фосфолипидов, цикло- и липоксигеназами быстро трансформируется в эйкозаноиды и свободнорадикальные продукты, способные в условиях воспалительной реакции оказывать выраженное повреждающее действие на клетки и ткани [73, 74]. Кроме того, арахидоновая кислота — ключевой патогенетический фактор разобщения окисления и фосфорилирования в митохондриях, набухания митохондрий и формирования митохондриальной поры транзитной проницаемости с выделением проапоптотических факторов [75, 76].

В формировании проявлений синдрома системной воспалительной реакции значимую роль играет ксантиноксидоредуктаза. Ксантиноксидоредуктаза — цитозольный фермент [77], экспрессия которого резко стимулируется под влиянием гипоксии [78] и провоспалительных медиаторов, цитокинов [79, 80]. В патофизиологических условиях ксантиноксидоредуктаза выделяется из клеток в кровь (преобладает оксидазная форма фермента [81]) и фиксируется на плазматической мембране эндотелиоцитов посредством физико-химического взаимодействия с гликозаминогликанами [82]. Ксантиноксидоредуктаза, локализованная на цитоплазматической мембране эндотелиоцитов, в процессе окисления пуринов продуцирует супероксидный анион-радикал и одновременно может восстанавливать на другом активном сайте нитрит- и нитрат-анионы до оксида азота (NO $\cdot$ ) [83], т. е. рециклировать данный вазодилатирующий агент. Продукция прооксидантов (O $_2^{\cdot-}$ , H $_2$ O $_2$ , NO $\cdot$ , ONOO $^-$ ) ксантиноксидоредуктазой потенциально очень опасна, поскольку в итоге может приводить к повреждению эндотелиальной выстилки сосудов, неблагоприятным изменениям со стороны свертывающей системы крови и неконтролируемой вазодилатации. Попытки использования ингибитора ксантиноксидоредуктазы аллопуринола (аллопуринол — неметаболизируемый изомер гипоксантина, конкурентно ингибирующий окислительную трансформацию гипоксантина и ксантина на молибдоптерин-содержащем сайте фермента [84, 85]) в качестве терапевтического

средства при воспалении в диапазоне суточных доз 5–50 мг/кг не увенчались успехом — аллопуринол не оказывал влияния на течение и исходы вирусной инфекции [86]. Отсутствие терапевтического эффекта в данном случае легко объясняется тем, что при ингибировании (Mo-Co)-содержащего центра фермента аллопуринолом сохраняется NADH-оксидазная и нитрит-, нитрат-редуктазные активности ксантиноксидоредуктазы, реализуемые на FAD-зависимом домене энзима [87–89]. Поскольку среди фармакологических средств пока нет препаратов, способных ингибировать FAD-зависимую активность ксантиноксидоредуктазы, при фармкоррекции SIRS/сепсиса целесообразно обеспечение десорбции данного прооксидантного энзима с цитоплазматической мембраны эндотелиоцитов. Для минимизирования повреждающих эффектов ксантиноксидоредуктазы в условиях септических состояний следует использовать гепарин, по отношению к которому энзим проявляет высокую степень аффинности [90]. Необходимо учитывать, что гепарин не только обеспечивает солубилизацию ксантиноксидоредуктазы, но и снижает прокоагулянтный потенциал крови. Гепарин также характеризуется способностью блокировать провоспалительные эффекты НВР [91]. Гепарин вводится в дозе 10 000 ЕД в первый день после начала терапии SIRS/сепсиса, а в последующие дни — по 5000 ЕД подкожно вокруг пупка под контролем состояния свертывающей системы крови.

Известно, что супероксидный анион-радикал в отношении органических и неорганических химических соединений, в зависимости от их химической природы, способен выполнять роль как окислителя ( $E_0 \text{ O}_2^-/\text{H}_2\text{O}_2 = +0,89 \text{ В}$ ), так и восстановителя ( $E_0 \text{ O}_2/\text{O}_2^- = -0,33 \text{ В}$ ) [92]. Восстановительные свойства супероксид-радикала, продуцируемого в пессимальном количестве при системной воспалительной реакции, реализуются, в частности, в восстановительном высвобождении ионов железа из их комплексов с биомакромолекулами. Например, в составе трансферрина и ферритина железо представлено только в форме ионов  $\text{Fe}^{3+}$ , которые под влиянием супероксидного анион-радикала восстанавливаются до  $\text{Fe}^{2+}$  и покидают указанные выше белки [93, 94]. В присутствии свободных ионов железа и частично восстановленных форм кислорода формируется своеобразный «реактор» редокс-катаболической продукции прооксидантов, и в частности чрезвычайно токсичного гидроксильного радикала [95]. Это крайне опасное состояние биологической системы. Удаление свободных ионов железа из биосред организма — вопрос жизни и смерти при SIRS/сепсисе. Попытки использования для связывания ионов железа доступных комплексонов (десферроксамина) при воспалении легких не только не оказали положительного влияния на течение патологического процесса, но и, вопреки ожиданиям, увеличили летальность [86]. Объяснение данный парадокс находит в том, что ионы железа, хелатированные десферроксамином, не теряют каталитической активности, т. е. не утрачивают способность претерпевать редокс-превращения и таким образом участвовать в катализировании реакций Фентона и Осипова. Для удаления ионов железа из биосред организма необходимо использовать такие комплексоны, которые лишают ионы данного металла переменной валентности каталитической активности.

При рассмотрении патогенетических механизмов формирования системной воспалительной реакции при массивном цитолизе в качестве клеток-сенсоров присутствия формил-пептидов и митохондриальных ДНК-фрагментов

упоминались только полиморфноядерные нейтрофилы. Однако мощным провоспалительным потенциалом, способным реализоваться в присутствии митохондриальных антигенов, обладают также эпителиальные, эндотелиальные клетки и макрофаги [65, 96].

Таким образом, при воздействии физических, химических и биологических факторов, сопровождающемся массивным цитолизом и появлением во внеклеточных жидкостях митохондриальных формил-пептидов и ДНК-фрагментов, индуцируется неадекватная (при отсутствии инфекционных агентов) воспалительная реакция иммунной системы на локальном (воспаление в зоне цитолиза) и системном (SIRS) уровнях. Весь бактерицидный потенциал воспалительной реакции (соответственно масштабу цитолиза), призванный обеспечить клиренс инфекционного начала, в силу отсутствия патогенов в биосредах оказывается направленным против самого организма, т. е. приобретает саморазрушительный, патологический характер. Синдром системной воспалительной реакции диагностируется при наличии не менее двух из следующих критериев:

- температура тела  $>38,5$  °C или  $<35,0$  °C;
- тахикардия: пульс  $>90$  в минуту;
- тахипноэ: частота дыхательных движений  $>20$  в минуту или  $\text{PaCO}_2 <32$  мм рт. ст.;
- лейкоцитоз: число лейкоцитов  $>12\,000$  или  $<4000$  клеток в микролитре [14].

И основными направлениями профилактики/терапии синдрома системной воспалительной реакции, исходя из контекста изложенного, следует признать:

- блокирование рецепции клетками-мишенями митохондриальных формил-пептидов и ДНК-фрагментов;
- ингибирование эффектов медиаторов воспалительной реакции;
- гомеостатирование уровня цитозольного кальция;
- ингибирование реакций генерирования прооксидантов и неферментативного окисления;
- поддержание баланса про- и антикоагулянтного потенциала свертывающей системы крови.

SIRS отличается склонностью к прогрессивному течению. Из числа всех больных с диагностированным синдромом системной воспалительной реакции приблизительно у 28% в последующем развивается сепсис, у 18% – тяжелый сепсис и у 4% – септический шок [97]. Поскольку в качестве основного этиологического фактора септических состояний принято рассматривать инфекцию, среди общепринятых диагностических критериев сепсиса инфекция также стоит на первом месте.

#### **Диагностические критерии сепсиса**

1. Инфекция (конкретные доказательства или подозрение на наличие).

2. Общие изменения (симптомы):

- температура «ядра» тела  $>38,3$  °C или  $<36$  °C;
- частота сердечных сокращений  $>90$  в минуту или  $>2$  SD возрастной нормы;
- тахипноэ;
- элементы изменения сознания;
- значительные отеки или позитивный водный баланс ( $>20$  мл/кг за 24 часа);
- гипергликемия (уровень глюкозы в крови  $>120$  мг/дл или  $7,7$  ммоль/л)

при отсутствии диабета.

### 3. Симптомы воспаления:

- лейкоцитоз ( $>12000$  в микролитре);
- лейкопения ( $<4000$  в микролитре);
- при нормальном уровне лейкоцитов  $>10\%$  незрелых форм;
- С-реактивный белок плазмы  $>2$  SD возрастной нормы;
- прокальцитонин плазмы крови  $>2$  SD возрастной нормы.

### 4. Гемодинамические симптомы:

- артериальная гипотензия (систолическое АД  $<90$  мм рт. ст., среднее АД  $<70$  мм рт. ст., или снижение систолического АД  $>2$  SD ниже возрастной нормы);
- $SvO_2 >70\%$ ;
- сердечный индекс  $>3,5$  л·мин<sup>-1</sup>·м<sup>-2</sup>.

### 5. Симптомы органной недостаточности (дисфункции):

- артериальная гипоксемия ( $PaO_2/FiO_2 <300$ );
- острая олигоурия (объем мочи  $<0,5$  мл·кг<sup>-1</sup>·ч<sup>-1</sup>);
- возрастание уровня креатинина  $>0,5$  мг/дл;
- изменение показателей состояния свертывающей системы крови (INR  $>1,5$  или PPT  $>60$  с);
- илеус (отсутствие шумов кишечной перистальтики);
- тромбоцитопения (содержание тромбоцитов  $<100\,000$  в микролитре);
- гипербилирубинемия (общий билирубин крови  $>4$  мг/дл или  $70$  ммоль/л).

### 6. Симптомы тканевой гипоперфузии:

- гиперлактатемия ( $>2$  ммоль/л);
- увеличение показателя времени заполнения капилляров или «мраморная» окраска кожного покрова [15].

Для понимания предлагаемой концепции патогенеза септических состояний важно изначально исходить из того, что массивный цитолиз и цитолиз-ассоциированный синдром системной воспалительной реакции представляют собой мощнейшие стресс-индуцирующие факторы. Системные эффекты стрессоров различной природы опосредуются стимуляцией гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы [98–100]. Обнаружение феномена мимикрии всех системных стресс-индуцированных изменений в организме при хроническом введении кортикотропин-релизинг фактора позволило рассматривать данный гормон в качестве основного стресс-ассоциированного эффектора [101, 102].

Кортикотропин-релизинг фактор (CRF) представляет собой полипептид, включающий 41 остаток аминокислот, который вырабатывается в срединном возвышении гипоталамуса и через портальный кровоток поступает в переднюю долю гипофиза. В питуитарной железе под влиянием CRF стимулируется экспрессия и секреция адренокортикотропного гормона (АКТГ, кортикотропин). АКТГ, в свою очередь, посредством аденилатциклазного механизма стимулирует синтез и поступление в кровь гормонов коры надпочечников – глюкокортикоидов, эстрогенов и андрогенов [103–105]. Физиологические эффекты кортикотропин-релизинг фактора и родственных ему нейропептидов урокортин-1, -2, -3 (UcnI, UcnII, UcnIII) реализуются при их взаимодействии с G-сопряженными рецепторами CRF (CRF-Rs) двух типов: CRF-R1 и CRF-R2 [106–108], локализованными на клеточных элементах ЦНС и периферических тканей [109]. Активация G-сопряженных клеточных CRF-рецепторов может вести к стимуляции множества сигнальных путей (MAPK, PK, ERK1/2), которые по-разному изменяют

физиологическое состояние нейронов, эндотелиоцитов и клеток эндокринных органов и иммунной системы [110–113].

Кортикотропин-релизинг фактор, родственные CRF нейропептиды, оба суб-типа рецепторов CRF (CRF-R1 и CRF-R2) экспрессируются разнообразными клетками кишечника, включая клеточные элементы слизистой оболочки и вегетативной нервной системы желудочно-кишечного тракта [114]. CRF, урокортины, рецепторы кортикотропин-релизинг фактора имеют самое непосредственное отношение к возникновению стресс-индуцированной патологии ЖКТ [115]. Парентеральное введение CRF, урокортинов стимулирует кишечную моторику [116] и данный эффект не модулируется ганглиоблокаторами, так как действие полипептидов реализуется на уровне периферических нейронов [117]. Кроме того, системное введение кортикотропин-релизинг фактора и урокортинов мимикрирует стресс-индуцированные изменения функционального состояния энтероэндокринных [118], иммунных клеток (включая мастоциты, лимфоциты и макрофаги) [119–124], бокаловидных экзокриноцитов [125, 126] и других эпителиоцитов [127]. В результате изменяются секреторная функция, проницаемость эпителиальной выстилки кишечника и колонизационная резистентность ЖКТ [101, 128–131]. Следует подчеркнуть, что генная экспрессия кортикотропин-релизинг фактора клеточными элементами кишечной стенки резко стимулируется кортикостероидами и кортикостероид-независимым путем под влиянием эндотоксина (липополисахарида) грамотрицательных бактерий [132] и энтеротоксина А грамположительных *Clostridium difficile*. Токсин А *C. difficile*, кроме того, самым значимым образом увеличивает экспрессию и рецепторов кортикотропин-релизинг гормона (CRF-R1 и CRF-R2) клетками кишечной стенки [133–135]. К этому нужно добавить, что CRF и родственные нейропептиды, в свою очередь, стимулируют экспрессию TLR4 в макрофагах, увеличивая их чувствительность к липополисахариду [123], и подавляют продукцию противовоспалительного цитокина IL-18 [124].

Предполагается, что эффекты кортикотропин-релизинг фактора в кишечнике в определенной степени опосредуются и усиливаются нейропептидом субстанция Р [136]. Кортикотропин-релизинг фактор и субстанция Р колокализированы в клетках нервной системы кишечника [134]. Также субстанцию Р способны продуцировать макрофаги, эозинофилы, лимфоциты и дендритные клетки [137, 138]. Под влиянием CRF стимулируется экспрессия субстанции Р [134], которая, в свою очередь, рецептор-зависимым путем (посредством рецептора NK-1R) индуцирует вазодилатацию, увеличение проницаемости биологических барьеров и стимулирует продукцию провоспалительных цитокинов [137–139]. На патофизиологическую значимость субстанции Р при SIRS/сепсисе косвенно указывает и то, что *Entamoeba histolytica* в качестве одного из факторов вирулентности секретирует именно данный пептид [140]. Провоспалительные эффекты субстанции Р усиливаются H<sub>2</sub>S и, следовательно, в присутствии сульфат-редуцирующей микрофлоры в кишечнике (при дисбиотических состояниях) дисфункция и альтерация кишечника, индуцируемые при стрессе, могут быть более выраженными [141, 142].

Изложенное позволяет полагать, что при лечении SIRS/сепсиса будут терапевтически эффективны антагонисты рецепторов кортикотропин-релизинг фактора [133, 134, 143] и субстанции Р (NK-1R). Антагонист NK-1R апрепитат с успехом используется в качестве противорвотного средства при химиотерапии



злокачественных новообразований [144]. О перспективности использования антагонистов NK-1R в качестве средств профилактики/терапии SIRS/сепсиса косвенно свидетельствует высокая резистентность к действию липополисахарида и полимикробному сепсису животных при нокауте гена PPTA (Preprotachykinin-A), экспрессирующего субстанцию P [145–148].

Обращает на себя внимание резистентно-прогрессирующий характер сепсис-ассоциированных изменений в организме млекопитающих. Такая особенность динамики проявлений септических состояний, вероятно, обусловлена целым спектром взаимосвязанных причин. Среди них следует отметить способность циркулирующих провоспалительных цитокинов (TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6) и липополисахарида грамотрицательных микроорганизмов изменять функциональное состояние нейронов паравентрикулярного ядра гипоталамуса, т. е. мимикрировать центральные эффекты стресс-индуцирующих факторов [149–152]. Оказалось, что центральные эффекты провоспалительных цитокинов, не обладающих способностью преодолевать гистогематический барьер, опосредуются стимуляцией синтеза простагландина E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) в периваскулярных клетках (субтип резидентных макрофагов) церебрального микроциркуляторного ложа [153–155]. PGE<sub>2</sub> способен преодолевать гистогематический барьер и активировать адренергические нейроны роstralной части вентролатерального отдела продолговатого мозга (RVLM), проецирующиеся в гипоталамус [152, 156]. Аксональные терминалы активированных простагландином E<sub>2</sub> нейронов RVLM приобретают способность секретировать норадреналин в паравентрикулярных ядрах гипоталамуса, побуждая находящиеся там нейроны экспрессировать кортикотропин-релизинг фактор, т. е. в итоге провоспалительные цитокины и эндотоксин грамотрицательных бактерий стимулируют активность стресс-реализующей системы [157–159]. Кроме того, активация нейронов паравентрикулярного ядра гипоталамуса сопровождается увеличением тонуса симпатического отдела вегетативной нервной системы [160, 161] и CRF-зависимым возрастанием активности ферментов синтеза норадреналина (тирозингидроксилазы и дофамин- $\beta$ -гидроксилазы) [162–164] на фоне угнетения активности энзимов деградации катехоламинов [165, 166].

И хотя кишечник считается основным источником норадреналина при сепсисе [162], в значительном объеме катехоламины секретируются лимфоцитами и фагоцитами [167]. Накапливается все больше данных об ассоциированности полиорганной недостаточности с уровнем катехоламинов в крови. Например, установлено, что именно высокий уровень норадреналина в крови порталных сосудов является основной причиной гепатоцеллюлярной дисфункции при сепсисе [162, 168–170]. О значимости катехоламинов в формировании полиорганной недостаточности при сепсисе свидетельствуют экспериментальные данные: назначение антагонистов  $\alpha_2$ - и  $\beta_2$ -адренорецепторов существенным образом снижает экспрессию провоспалительных цитокинов, хемокинов, коактиватора рецептора TLR-4 и увеличивает выживаемость биологических экспериментальных моделей [171, 172]. Именно поэтому поиск фармакологических средств, предотвращающих гиперкатехоламинемию и селективно изменяющих чувствительность тканеспецифических адренорецепторов, считается перспективным направлением изыскания новых подходов в терапии SIRS/сепсиса [167, 171].

Стресс-индуцированные реакции макроорганизма могут сопровождаться стресс-ассоциированными изменениями фенотипа условно-патогенных микро-

организмов кишечного микробиома. Далеко не последнюю роль в трансформации авирулентных микроорганизмов в вирулентных патогенов играет норадреналин. Из общего количества катехоламинов, синтезируемых в организме млекопитающих, до 45–50% продуцируется в мезентеральных органах со скоростью 15,5 нмоль/мин [173, 174]. Стресс-ассоциированное возрастание уровня норадреналина в тканях органов брюшной полости, по-видимому, обусловлено стресс-индуцированным увеличением активности тирозингидроксилазы — энзима, лимитирующего скорость синтеза данного нейротрансмиттера [162]. В тканях органов брюшной полости уровень норадреналина в условиях стресса может быть достаточно высоким, чтобы обеспечить его транспорт по градиенту концентрации в просвет сосудов и кишечника [175, 176]. Возможность существования такого транспорта в толще кишечной стенки убедительно показана на примере серотонина [177].

В экспериментах *in vitro* наглядно продемонстрировано, что прямой стимулирующей рост условно-патогенной микрофлоры активностью обладает целый ряд катехоламинов (норадреналин, адреналин, дофамин, дофа, изопреторенол) [178, 179] и катехолов растительного происхождения (хлорогеновая, кофеиновая и таниновая кислоты). Модулирующее влияние перечисленных физиологически активных соединений на фенотип кишечной микрофлоры проявляется при концентрациях, эквивалентных уровню данных соединений в крови [180]. Существенно, что катехоламины не только стимулируют рост условно-патогенных бактерий, но и обеспечивают драматическое изменение их фенотипа, побуждая микроорганизмы экспрессировать факторы вирулентности [181]. Следует особо подчеркнуть, что норадреналин не утилизируется микрофлорой в качестве пищевого субстрата, а играет роль сигнальной молекулы [182, 183], модулирующей экспрессию не только факторов вирулентности, но и бактериальных сигнальных молекул (автоиндукторов), стимулирующих рост других микроорганизмов [184, 185].

В 60-е годы прошлого столетия академик П. К. Анохин сформулировал концепцию опережающего отражения действительности как главной формы адаптивной деятельности мозга [186, 187]. Изначально опережающее отражение действительности рассматривалось как черта сложно организованных живых систем, основная форма их приспособления к закономерно изменяющимся условиям среды обитания. Однако отражение — всеобщее свойство материи, способность объектов претерпевать в ходе взаимодействия изменения, характеризующие отражаемый объект. Опережающее отражение действительности — основная форма адаптивных реакций всякой живой материи, в том числе и прокариот. Увеличение уровня катехоламинов в просвете кишечника, по нашему мнению, несет условно-патогенной микрофлоре кишечного микробиома сигнал крайнего физиологического неблагополучия макроорганизма, знак его вероятной скорой гибели, т. е. информацию о скором разрушении среды обитания, и это является основной причиной упреждающего изменения фенотипа комменсалов. Включая генетические программы, обеспечивающие увеличение биомассы и диссеминацию по биологическим средам макроорганизма (провоцируя/ускоряя гибель последнего), комменсалы увеличивают вероятность своего выживания в изменяющихся условиях (после гибели макроорганизма). Таким образом, сепсис — клинические проявления стратегии выживания условно-патогенных микроорганизмов (кишечного микробиома) в «обреченном»

на гибель макроорганизме, когда, захватывая «жизненное пространство» и пищевые ресурсы, комменсалы упреждающе экспрессируют весь арсенал факторов вирулентности.

На фоне стресс-индуцированной стимуляции вегетирования грамотрицательной микрофлоры, экспрессии факторов вирулентности условно-патогенными микроорганизмами наблюдается и стресс-ассоциированное подавление продукции и секреции sIgA [188–192], блокирующего бактериально-эпителиальную адгезию и обеспечивающего элиминацию нерезидентных микроорганизмов. Экспрессия SIgA в кишечнике резко снижается сразу же после воздействия стресс-индуцирующего фактора [190] и находится в отрицательной корреляционной связи с уровнем норадреналина в крови [192].

В качестве значимого фактора обеспечения толерантности макроорганизма относительно присутствия в желудочно-кишечном тракте грамотрицательных комменсалов в настоящее время рассматривается кишечная щелочная фосфатаза, экспрессируемая на апикальной части цитоплазматической мембраны зрелых энтероцитов. Обладая способностью дефосфорилировать липополисахарид энтеробактерий, щелочная фосфатаза понижает интралуминальный уровень эндотоксина, т. е. обеспечивает детоксикацию внутрикишечной среды [193–196]. Экспрессия кишечной щелочной фосфатазы подавляется провоспалительными цитокинами, при стрессе (голод, хирургическая травма, ишемия-реперфузия сегментов кишечника и т. п.) [195, 197–200], модулируется гормонами коры надпочечников [201] и стимулируется липополисахаридом грамотрицательных энтеробактерий [202, 203].

В качестве критического регулятора экспрессии кишечной щелочной фосфатазы выступает тиреоидный гормон трийодтиронин ( $T_3$ ). Позитивное регулирующее влияние трийодтиронина на экспрессию данного энзима опосредуется  $T_3$ -чувствительным атипичным промоутером гена щелочной фосфатазы [204]. Учитывая значимость активности кишечной щелочной фосфатазы в детоксикации бактериального липополисахарида во внутрикишечной среде [195, 196] и лидирующую роль LPS в формировании метаболического синдрома [205–208], становится понятной ассоциированность низкого уровня гормонов щитовидной железы в крови при гипотиреозидизме с проявлениями метаболического синдрома [209–213].

Пищевая депривация, гипокалорийная диета с неизбежностью приводят к быстрому и существенному снижению уровня трийодтиронина в крови (в том числе при септических состояниях) [214] и, следовательно, к подавлению экспрессии кишечной щелочной фосфатазы. И это весьма значимо при септических состояниях, поскольку кишечная щелочная фосфатаза посредством дефосфорилирования не только детоксицирует липополисахарид, но и лишает биологической активности флагеллин и CpG-последовательности фрагментов бактериальной ДНК [215].

Более подробного рассмотрения заслуживает роль липополисахарида (LPS) внешней оболочки грамотрицательных бактерий в патогенезе септических состояний:

- подавление экспрессии фермента детоксикации LPS кишечной щелочной фосфатазы в условиях стресса, на фоне пониженного уровня трийодтиронина [195, 197–200, 214] обуславливает значительное возрастание содержания бактериального эндотоксина в просвете кишечной трубки;

- эндотоксин (LPS) грамотрицательных бактерий, преодолев кишечный барьер, способен резко стимулировать генную экспрессию кортикотропин-релизинг фактора клеточными элементами кишечной стенки, что ведет к возрастанию проницаемости слизистого барьера кишечника [130–132, 134];
- активация TLR4-зависимого сигнального пути липополисахаридом в энтероцитах сопровождается ингибированием пролиферативной, миграционной активности эпителиоцитов [216–219] и индукцией сигнального каскада апоптотической гибели данных эпителиальных клеток [220], что в итоге проявляется нарушением барьерной целостности эпителиальной выстилки кишечной стенки, которая начинает напоминать дырявый зонтик;
- нарушение барьерной целостности слизистой оболочки кишечника сопровождается возрастанием уровня LPS в биосредах и эндотоксин-индуцированным увеличением экспрессии TLR4 в клетках, т. е. сенситизацией организма к эндотоксину [221–223];
- LPS (эндотоксин) внешней оболочки грамотрицательных бактерий посредством изменения функционального состояния периваскулярных клеток церебрального микроциркуляторного ложа способен мимикрировать центральные эффекты стресс-индуцирующих факторов, обеспечивая перманентную стимуляцию стресс-реализующей системы (гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси) [149–159].

Таким образом, липополисахарид, разрушая барьерную целостность эпителиальной выстилки кишечника, делая ее проницаемой не только для бактериальных токсинов, формилпептидов, CpG-содержащих фрагментов ДНК, но и для вирулентных микроорганизмов, представляет собой лидирующий фактор трансформации синдрома системной воспалительной реакции в септическое состояние. Поэтому блокирование LPS-индуцированных сигнальных каскадов (TLR4-зависимой трансдукции сигнала присутствия патоген-ассоциированной биомолекулы) выглядит многообещающе в профилактике/терапии септических состояний и считается одним из основных направлений в стратегии фармакологической коррекции сепсиса [224].

В качестве ингибиторов TLR4 в настоящее время рассматривается целый ряд полусинтетических и синтетических соединений. В частности, известны свойства производного липида A эндотоксина *Rhodobacter capsulatus* препарата E5531 как антагониста TLR4, не обладающего эндотоксин-подобной активностью, но способного блокировать физиологические эффекты липополисахарида *in vitro* [225], *in vivo* [225] и в контролируемом эксперименте у человека [226]. Синтетический антагонист липополисахарида эриторан (eritoran, E5564) также эффективно подавляет LPS-индуцированную продукцию провоспалительных цитокинов [227], клинические проявления эндотоксемии [228] и при проведении клинических испытаний, которые должны завершиться к концу 2010 года, уменьшал летальность в случаях тяжелого сепсиса с 56,3% до 33,3% [229]. Рецепторы TLR4, обильно экспрессируемые кардиомиоцитами [230], при эндотоксемии участвуют в формировании кардиоваскулярных нарушений [231]. И поэтому антагонисты TLR4, помимо прочего, позволяют обеспечивать эффективную профилактику контрактильной дисфункции кардиомиоцитов [232]. Более того, на модели ишемии-реперфузии миокарда эриторан уменьшал размер зоны некролизации сердечной мышцы [233]. Эффективно ингибирует TLR-зависимый сигнальный каскад и антагонист липополисахарида этил-(6R)-[N-(2-хлоро-4-

фторфенил)сульфамоил]циклогекс-1-гене-1-карбоксилат (препарат ТАК 242) посредством ковалентного связывания с цистеином-747 внутриклеточного домена рецептора [234]. В ходе первой фазы клинических испытаний ТАК 242 установлена способность данного препарата эффективно ингибировать эндотоксин-стимулированную продукцию провоспалительных цитокинов у здоровых добровольцев [224].

Липополисахарид способен взаимодействовать не только с плазмомембранными рецепторами TLR4, но и проникая в иммунные клетки (интернализировавшись) [235], по-видимому, изменять функциональное состояние других рецепторов TLR-семейства. Поэтому хлорохин, будучи ингибитором TLR9 защищает мышей от летальных доз LPS посредством подавления продукции провоспалительных факторов [236]. Физиологическая активность хлорохина при эндотоксемии, вероятно, связана со способностью данного фармакологического средства подавлять экспрессию TLR4 и предотвращать его TLR9-опосредованные эффекты [224, 237].

Кетамин, широко используемый в качестве внутривенного анестетика, обладает и заметными противовоспалительными эффектами, связанными с его способностью подавлять генную экспрессию TLR4 и фосфорилирование различных киназ, вовлеченных в трансдукцию сигнала с TLR4 [238–240]. Использование кетамина в качестве седативного средства при септических состояниях может оказаться весьма полезным.

В последнее десятилетие внимание экспериментаторов и специалистов клинических профилей привлекают эффекты витамина D<sub>3</sub>, связанные с его способностью модулировать функциональное состояние иммунной системы организма человека. В частности, в плане рассматриваемой проблемы уместно указать на способность витамина D<sub>3</sub> защищать биологические модели от эндотоксического шока [241] и оказывать оптимизирующее влияние на состояние свертывающей системы крови при сепсисе [242]. Относительно терапии септических состояний актуально и то, что витамин D<sub>3</sub> стимулирует экспрессию кателицидина (кателицидин — антибактериальный пептид макрофагов и полиморфноядерных нейтрофилов), оказывающего не только бактерицидное действие, но и способностью нейтрализовать LPS [243–245], подавлять экспрессию TLR2 и TLR4 [246, 247]. В условиях витамин D<sub>3</sub>-дефицита подавляется продукция антибактериальных пептидов в кишечнике, что сопровождается многократным (50-кратным) увеличением показателя бактериальной обсемененности ткани кишечной стенки [248]. Следует подчеркнуть, что у больных тяжелой формой сепсиса уровень активных форм кателицидина (LL-37) и витамина D<sub>3</sub> в крови всегда существенно ниже физиологической нормы [249]. При решении проблемы профилактики/терапии SIRS/сепсиса важно учитывать и антиоксидантные эффекты витамина D<sub>3</sub>. Витамин D<sub>3</sub>, стимулируя генную экспрессию глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы (ключевой энзим пентозофосфатного пути окисления глюкозы), обеспечивающей редуцирование пиридиновых нуклеотидов [NAD (P)H] в цитозоле и, следовательно, создает условия для быстрого восстановления окисленных форм водо- и жирорастворимых антиоксидантов. Рециклируя антиоксиданты, витамин D<sub>3</sub> способствует поддержанию системы неферментативного гашения свободнорадикальных реакций в активном состоянии. Кроме того, 1,25-дигидроксивитамин D<sub>3</sub> существенным образом увеличивает уровень глутатиона в цитозоле клеток [250]. Антиоксидантные свойства витамина D<sub>3</sub> при оксидативном

стрессе просветляются цитопротективными [251] и противовоспалительными эффектами [252]. Исходя из изложенного, назначение витамина D<sub>3</sub> в дозе 4000 МЕ (100 мкг), обеспечивающей суточную физиологическую потребность организма [253], представляется вполне оправданным и необходимым при профилактике/лечении SIRS/септических состояний.

Важным следствием стресс-индуцированного угнетения экспрессии эпителиоцитами кишечника щелочной фосфатазы (помимо нарушения абсорбции липидов, увеличения интралуминального уровня липополисахарида, флагеллина, CpG-фрагментов бактериальной ДНК и увеличения проницаемости эпителиальной выстилки кишечника) является резкое снижение уровня неорганического фосфата в кишечном содержимом. Низкий интралуминальный уровень неорганического фосфата побуждает *Pseudomonas aeruginosa* экспрессировать вирулентный фенотип – продуцировать PA-1 лектин и экзотоксин А [254–256]. Галактоза-связывающий лектин PA-1 *P. aeruginosa*, нарушая функциональное состояние плотных межклеточных контактов эпителиальной выстилки кишечника, облегчает парацеллюлярное проникновение во внутреннюю среду макроорганизма липополисахарида, экзотоксина А и подобных других бактериальных токсинов. По сути дела, при септических состояниях наблюдается эволюционно выработанное кооперирование факторов вирулентности различных микроорганизмов аберрантного кишечного микробиома, направленное на разрушение целостности эпителиального барьера кишечника и макроорганизма как биологической системы. В частности, в дополнение к LPS-, флагеллин-, формилпептид- и CpG-ассоциированным эффектам, экзотоксин А *P. aeruginosa*, подвергая необратимому АДФ-рибозилированию фактор элонгации-2 рибосом (подобно дифтерийному токсину), угнетает белок-синтезирующую функцию эукариотических клеток [257], что в определенной степени обуславливает прогрессивную динамику патологии, рефрактерность септических состояний относительно корригирующей терапии.

Для ограничения локальных и системных эффектов стресс-ассоциированных медиаторов, бактериальных автоиндукторов, токсинов и метаболитов за 1–2 часа до приема пищи три раза в день целесообразно назначать внутрь энтеросгель в разовой дозе 0,2–0,3 г/кг, т. е. проводить неинвазивную эфферентную терапию методом энтеросорбции. Известно, что энтеросгель (полиметилсилоксана полигидрат) способствует регенерации слизистой оболочки кишечника, купированию проявлений дисбактериоза посредством адсорбирования из кишечного содержимого дисбиоз- и сепсис-индуцирующих субстанций [258–261].

Симбионтные лакто- и бифидобактерии – типичные представители сахаролитической микрофлоры [262], утилизирующие неперевариваемые полимеры углеводов (так называемые пищевые волокна) и продуцирующие короткоцепочечные жирные кислоты. Уровень короткоцепочечных жирных кислот составляет около 100 ммоль в кишечнике нежвачных млекопитающих. Они включают: ацетат (60%), пропионат (25%), бутират (15%) и следы валерата (<1%) [263]. Короткоцепочечные жирные кислоты на 5–10% покрывают энерготраты макроорганизма и представляют собой основной энергетический субстрат для энтероцитов [264]. Отсутствие в кишечнике пищевых волокон сопровождается резким снижением уровня короткоцепочечных жирных кислот и численности симбионтной сахаролитической микрофлоры.

С учетом патогенетической значимости пищевой депривации в формировании септических состояний, в качестве элемента профилактики/терапии следует рассматривать сам факт энтерального питания. Наиболее подходящим пищевым продуктом для обеспечения профилактики/терапии септических состояний, отличающимся высоким содержанием неперевариваемых полимеров углеводов, можно считать овсяные хлопья. В зернах овса доля пищевой клетчатки составляет до 10–12%, которая примерно наполовину состоит из наиболее ценных для человеческого организма  $\beta$ -гликоканов. В 1997 году Администрация США по контролю над пищевыми продуктами и медикаментами (US FDA) признала овсяные отруби первым продуктом, снижающим уровень холестерина в крови (по-видимому, в результате нормализации кишечного микробиома) [265]. Национальная академия наук США рекомендует суточную дозу овсяной клетчатки на уровне 25–28 г для здоровых молодых женщин и мужчин [266]. Рекомендованная доза пищевых волокон содержится в 200–250 г овсяных хлопьев, из которых для осуществления диетической профилактики/терапии септических состояний следует готовить утреннюю и вечернюю порции овсяной каши равных объемов (200–300 мл). Лучше всего  $\beta$ -гликоканов овсяной каши принимать на тощий желудок, что обеспечивает в оптимальном режиме их кишечный пассаж и транспорт через эпителиальный барьер в лимфу. Пероральное поступление  $\beta$ -гликоканов в организм также физиологически эффективно, как и их парентеральное введение [267, 268]. Бета-гликоканов чрезвычайно термоустойчивы и поэтому не теряют физиологической активности в процессе кулинарной обработки [269], которая проявляется в их способности:

- модулировать активность иммунной системы [270] дозозависимым образом [271] без эффектов избыточной стимуляции и, следовательно, не имеющая противопоказаний у субъектов с аутоиммунными, аллергическими и грибковыми заболеваниями [272];
- бета-гликоканов при профилактическом назначении могут предотвращать развитие септических состояний, а при лечебном — уменьшать выраженность проявлений сепсиса [273];
- иммуномодулирующее действие  $\beta$ -гликоканов обусловлено их способностью специфически связываться с лектиновым сайтом CR3 (CR3 — Complement Receptor-3) макрофагов, усиливая их бактерицидность, включая защиту от опухолевых клеток [268, 274];
- бета-гликоканов улучшают моторную функцию кишечника [275] и проявляют антиоксидантные свойства [276, 277].

При приготовлении овсяной каши целесообразно использование пекарских дрожжей (*Saccharomyces cerevisiae*) в количестве 10–15 г на одну порцию для предупреждения трансформации авирулентного фенотипа *P. aeruginosa* в вирулентный в условиях фосфат-дефицитной среды обитания. Пекарские дрожжи содержат неорганические полифосфаты [278, 279],  $\beta$ -гликоканов [280] и обладают значимым профилактически-терапевтическим потенциалом относительно септических состояний [273, 281].

Уровень железа в биосредах организма поддерживается на экстремально низком уровне —  $10^{-18}$  М [282]. Это делает ионы железа практически недоступными для патогенных микроорганизмов [283], для которых данный катион представляет собой фактор роста [284], определяющий экспрессию факторов вирулентности [285]. Особенно опасно нарушения в системе гомеостатирования ионов

металлов переменной валентности могут проявиться в условиях септических состояний [286, 287]. Проблему переходных металлов при сепсисе актуализирует то обстоятельство, что катехоламины, секретируемые нейронами автономной симпатической нервной системы кишечника [288], а также клетками иммунной системы (лимфоцитами, фагоцитами) [289–291], обеспечивают выделение ионов железа из трансферрина и лактоферрина посредством прямого взаимодействия с  $Fe^{3+}$  в составе биокомплексонов, сопровождающегося восстановлением и лабильзацией данного иона [292]. Взаимодействие катехоламинов с трансферрином и лактоферрином, обогащая биосреды ионами железа, трансформирует бактериостатическую природу плазмы крови и секретов слизистых барьеров в культуральные среды, стимулирующие вегетирование вирулентной микрофлоры [183, 293, 294]. Уровень ионов железа в биосредах организма в условиях сепсиса – фактор, определяющий исход патологического процесса [295, 296]. К числу бактериальных токсинов, экспрессия которых регулируется уровнем железа в среде обитания, относятся: экзотоксин А *Pseudomonas aeruginosa*, шиггиподобный токсин-1 (SLT-1), аэробактин и  $\alpha$ -гемолизин *Escherichia coli* и др. [283]. Доступность ионов железа позволяет бактериальным патогенам преодолевать иммунные защитные механизмы макроорганизма [285]. Например, вирулентность *Pseudomonas aeruginosa* в присутствии ионов железа может увеличиваться на пять порядков [297]. С целью уменьшения биодоступности ионов железа для условно-патогенной микрофлоры кишечника, больным с септическими состояниями целесообразно дважды в сутки внутрь назначать по одному сырому белку куриных яиц. Белок куриных яиц содержит овотрансферрин (кональбумин), на долю которого приходится до 12–13% от общего количества протеинов [298], отличающийся высокой термолабильностью, оказывающий антибактериальное действие [299] и противовирусной активностью [300]. Каждая молекула овотрансферрина способна хелатировать два атома железа [301], не теряя при этом антибактериальной активности [302]. Вероятно, благодаря именно этим свойствам овотрансферрин продемонстрировал хорошую терапевтическую эффективность при лечении острых энтеритов у детей первого года жизни [303].

В качестве стимулятора роста симбионтной микрофлоры кишечника целесообразно пероральное назначение 0,25% раствора новокаина в объеме 5,0 мл три раза в сутки после еды (разовая доза 12,5 мг, суточная – 37,5 мг новокаина). Новокаин ( $\beta$ -диэтиламиноэтиловый эфир парааминобензойной кислоты гидрохлорид) быстро гидролизует в щелочной среде с выделением парааминобензойной кислоты и диэтиламиноэтанола (последний обладает только умеренным сосудорасширяющим действием) [304]. Парааминобензойная кислота (витамин В<sub>10</sub>) является составной частью молекулы фолиевой кислоты и представляет собой «фактор роста» для представителей симбионтной микрофлоры [305]. Естественно, стимуляция роста симбионтов в кишечнике сопровождается подавлением вегетирования нерезидентных микроорганизмов [306]. Кроме того, парааминобензойная кислота – эффективный индуктор интерферона [307]; способна оказывать нормализующее воздействие на обмен в соединительной ткани и оптимизировать усвоение организмом человека других витаминов группы В. Новокаин, как предшественник парааминобензойной кислоты, также проявляет свойства индуктора интерферона [308].

Исходя из понимания патогенетической значимости рецепции формилпептидов и метилированных CpG-фрагментов ДНК митохондриального



и бактериального генеза клетками иммунной системы в формировании симптомокомплекса SIRS и септических состояний, в терапии данных состояний представляется чрезвычайно важным обеспечение фармакологического блокирования сигнальных путей, ведущих к неадекватной провоспалительной реакции макроорганизма.

В клинической практике широкое применение находит в качестве безопасного, эффективного и доступного лекарственного средства хлорохин (Chloroquine):

- для профилактики и терапии малярии [309, 310];
- при лечении проказы [311];
- как противовоспалительное средство в терапии ревматоидного артрита [312, 313];
- при лечении амёбных гепатитов [314];
- в терапии злокачественных новообразований как средство сенситизации [315, 316];
- при лечении метаболического синдрома и воспалительных заболеваний бактериальной этиологии [317, 318].

В плане рассматриваемого вопроса значимо, что данный препарат признан эталонным ингибитором TLR9 [319] и способен ингибировать ряд других Toll-подобных рецепторов (TLR3, 7, 8) [320, 321]. Кроме того, хлорохин уменьшает секрецию провоспалительных цитокинов (TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-10, IL-12) клетками иммунной системы, подавляет активацию ядерных факторов транскрипции (NF- $\kappa$ B, AP-1), экспрессию Toll-подобных рецепторов (TLR9, TLR4) и ингибирует проапоптотический энзим каспазу-3, что значимо снижает выраженность воспалительной реакции и проявляется цитопротективными эффектами [319, 321]. В формировании проявлений физиологической активности хлорохина значимо и то, что в микромолярном диапазоне концентраций данный лекарственный препарат проявляет свойства ингибитора фосфолипазы A2 и плазмомембранных медленных Ca<sup>2+</sup>-каналов [322, 323].

Спектр физиологической активности хлорохина, рассматриваемого в качестве средства профилактики/терапии SIRS и септических состояний, весьма удачно дополняется палитрой фармакологических эффектов циклоспорина А (циклического пептида, содержащего 11 аминокислотных остатков), обладающего:

- мощным ингибирующим воздействием на внутриклеточный формилпептидный рецептор 1 (FPR1) [324, 325];
- выраженным ингибирующим влиянием на рианодиновые рецепторы (RyRs) эндоплазматического ретикулума [326–328];
- способностью подавлять экспрессию фосфолипазы A2, индуцированную провоспалительными цитокинами [329–331];
- прямым ингибирующим воздействием на активность кальцинейрина [331], что, помимо прочего, предупреждает дефосфорилирование-активирование конститутивных изоформ NOS [332, 333];
- эффектом подавлять экспрессию индуцибельной и конститутивных изоформ NOS [334, 335];
- свойством эталонного ингибитора митохондриальной поры транзитной проницаемости, проявляющимся выраженной цитопротективной активностью [336–338].

Способность циклоспорина А модулировать важнейшие биохимические механизмы гомеостатирования уровня цитозольного кальция, ингибировать

эффекты провоспалительных цитокинов, формирование митохондриальной поры транзитной проницаемости и блокировать рецепцию формил-пептидов клетками иммунной системы позволяет рассматривать данный фармакологический препарат в качестве цитопротективного средства при критических состояниях, в том числе при SIRS и сепсисе. В клинических испытаниях эффективности и безопасности ежедневного двукратного в течение трех суток внутривенного введения циклоспорина А в диапазоне доз 1,23–5 мг/кг в день в качестве цитопротектора пациентам с тяжелой черепно-мозговой травмой установлено достоверно благотворное влияние препарата на формирование исходов травмы при отсутствии неблагоприятных эффектов [339].

При комбинированном применении хлорохина и циклоспорина А взаимодополняющая плеiotропность физиологических эффектов препаратов позволяет положительно влиять на основные патогенетические механизмы формирования SIRS/сепсиса. Но ни один из указанных препаратов не обладает собственной антиоксидантной активностью, а значимость оксидативного стресса в патогенезе SIRS/септических состояний такова, что при лечении данной категории больных показана интенсивная антиоксидантная терапия.

Помимо прямого повреждающего действия на биоструктуры, внутриклеточные прооксиданты, формируя сдвиг редокс-потенциала в сторону окислительных значений, выступают в качестве регуляторного стимула, модифицирующего экспрессию генов воспалительной реакции [340]. В условиях оксидативного стресса стимулируется генная экспрессия TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  [341], IL-6 [342], IL-8 [343], металлопротеиназ (MMP-1, MMP-2, MMP-9) [344–346] посредством редокс-активации ядерного фактора NF-kB [347]. Подобным же образом прооксиданты стимулируют и других факторов транскрипции: AP-1 (Activated Protein-1 – AP-1), HIF-1 $\alpha$  (Hypoxia-Inducible transcription Factor-1 $\alpha$  – HIF-1 $\alpha$ ) [349] и CREB (cAMP-Resposive Element-Binding protein – CREB) [350]. Весьма значима роль пероксинитрита в экспрессии генов ранней воспалительной реакции [351–356]. Не удивительно, что антиоксиданты оказывают выраженное противовоспалительное действие [357–359]. А необходимость интенсивной антиоксидантной терапии при SIRS/сепсисе обусловлена еще и тем, что прооксиданты стимулируют инфлюкс ионов кальция в цитозоль фагоцитов, обеспечивая поддержание полиморфноядерных нейтрофилов в активированном состоянии (состоянии респираторного взрыва) [360]. Кроме того, характерная черта септического шока – гипо-/ареактивность сосудистой стенки к воздействию вазоконстрикторов на фоне тяжелейших гемодинамических расстройств. Однако при условии проведения адекватной антиоксидантной терапии ситуацию удастся взять под контроль. Например, на фоне введения антиоксидантных ферментов при септическом шоке восстанавливается вазопрессорный эффект норадреналина [361].

Известно, что фармакологическая коррекция проявлений оксидативного стресса эффективна только при комплексном применении водо-, жирорастворимых антиоксидантов, восстанавливающих их тиолов и комплексонов (хелаторов) металлов переменной валентности [362]. Находясь в рамках данной концепции, при профилактике/терапии SIRS/септических состояний целесообразно использовать: аскорбиновую кислоту,  $\alpha$ -токоферол, в качестве восстанавливающего их тиола – унитиол, а для восполнения пула эндогенного глутатиона – аминокислоту-прекурсор N-ацетилцистеин. В протекции биологических мембран от повреждающего действия прооксидантов, в кооперации

с  $\alpha$ -токоферолом (формируя в липидном бислое мембран динамичные сенсорно-проводящие комплексы, каждый из которых защищает 300–500 молекул фосфолипидов [365]), принимает участие и ретинол (витамин А), усиливающий антиоксидантные эффекты витамина Е [366]. Кроме того, в присутствии витамина А значительно тормозится биоконвертирование арахидоновой кислоты в провоспалительные простагландины [367], что проявляется, в частности, ингибированием индуцированной проникающей радиацией пульмонита [368]. Следовательно, использование витамина А в программе антиоксидантной профилактики и терапии SIRS/сепсиса является необходимостью.

Неотъемлемая часть антиоксидантного комплекса при профилактике/терапии SIRS/сепсиса — эмоксипина сукцинат (мексидол), как соединение-прекурсор фосфорилированных производных 3-оксипиридина, являющихся эффективными комплексонами ионов железа [369]. Мексидол в виде 5% раствора по 2,0 мл следует вводить внутривенно три раза в сутки. Мексидол (эмоксипина сукцинат) достаточно давно известен и с успехом применяется в терапии критических состояний [370]. Данный лекарственный препарат имеет широкий спектр фармакологической активности: является антигипоксическим, стресспротективным, ноотропным, противосудорожным и анксиолитическим средством, эффективно ингибирующим свободнорадикальное окисление в биосредах. Столь широкий диапазон фармакологической активности мексидола обусловлен способностью препарата стимулировать сукциноксидазное окисление (компенсаторный путь синтеза АТФ) [371], фосфорилироваться в биологических системах и хелатировать ионы железа, исключая тем самым каталитическую продукцию прооксидантов с участием данного металла переменной валентности [369]. Не менее существенно и то, что хелатирование свободных ионов железа в биосредах организма делает данный катион недоступным для микроорганизмов, что резко снижает их способность вегетировать и экспрессировать факторы вирулентности [372]. Для купирования проявлений септических состояний значима и способность фосфорилированных производных эмоксипина ингибировать активность сериновых и металлозависимых протеиназ [373]. Экзотоксин А *Pseudomonas aeruginosa* выделяется из бактерий и попадает в эукариотические клетки в виде физиологически неактивной белковой молекулы [374, 375], где претерпевает протеолитическую трансформацию под влиянием конвертазы фуринов (сериновая эндопротеиназа) с выделением каталитически активного С-концевого фрагмента массой 37 кДа [376, 377]. Данный фрагмент экзотоксина А *Pseudomonas aeruginosa*, носитель токсических свойств, обладает моно (АДФ-рибозил)-трансферазной активностью и способен АДФ-рибозилировать фактор элонгации-2 рибосом, тем самым блокируя синтез белков в эукариотических клетках [378]. Ингибирование сериновой эндопротеиназы фуринов фосфорилированными производными эмоксипина, естественно, будет предотвращать ингибирование синтеза белков в клетках. А поскольку (АДФ-рибозил)-трансферазная активность различных энзимов ингибируется никотиномидом (это в определенной степени относится и к активной форме экзотоксина А *P. aeruginosa*) [379], постольку при септических состояниях следует назначать витамин В<sub>3</sub> (никотинамид) по 25–50 мг внутрь после еды два раза в сутки. Конкурентным ауцептором АДФ-рибозы, способным уменьшить ингибирующее воздействие активной формы экзотоксина А на рибосомальный синтез белков, выступает аминокислота L-аргинин. L-аргинин относится к условно

незаменимым аминокислотам, суточная потребность в которой составляет 5,4 г [380]. Однако данная аминокислота становится незаменимой в критических состояниях [381]. Исходя из этого, при профилактике/терапии SIRS/сепсиса следует назначать L-аргинин внутрь в физиологической суточной дозе 5–6 г за 30–40 мин до еды (3–4 капсулы по 500 мг на прием три раза в день).

Патогенетически значима в формировании клинических проявлений септических состояний и стресс-ассоциированная супрессия перистальтической активности кишечника [382], способствующая задержке, ускоренному размножению, транслокации патогенных микроорганизмов и накоплению, абсорбции бактериальных токсинов [383]. Этиопатогенетические механизмы сепсис-ассоциированного подавления моторной функции кишечника во многом еще не выяснены [384]. Вместе с тем известно, что бактериальный липополисахарид супрессирует перистальтику кишечника, инициируя экспрессию провоспалительных цитокинов (IL-6, IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ ) фагоцитами [385, 386]. В свою очередь, провоспалительные медиаторы стимулируют экспрессию индуцибельной синтазы оксида азота (iNOS) и избыточную продукцию оксида азота (NO) макрофагами мышечного слоя кишечника, ослабляющего контрактильную активность циркулярных мышц желудочно-кишечного тракта [387, 388]. В формировании моторной гиподисфункции кишечника значима роль и оксидативного стресса [389]. Отчасти поэтому N-ацетилцистеин, как стехиометрическая ловушка прооксидантов и аминокислота-прекурсор глутатиона, оказался эффективным средством терапии септических состояний в эксперименте [390]. Для поддержания кишечного транзита целесообразно ежедневно утром и вечером назначать подкожно 0,2–0,5 мл 0,05% раствора прозерина и витамина B<sub>5</sub> (пантотеновая кислота) перорально в форме таблеток по 0,05 г, потенцирующего действие прокинетики и обладающего собственным физиологическим прокинетиическим эффектом [391]. Важно заметить, что возрастание тонуса блуждающего нерва сопровождается увеличением уровня ацетилхолина в интерстиции кишечной трубки. А под влиянием данного нейротрансмиттера стимулируется секреция антибактериальных пептидов клетками Панета в либеркуловых криптах [392, 393], что увеличивает защищенность от патогенов самого уязвимого фрагмента эпителиальной выстилки кишечника. Кроме того, ацетилхолин, взаимодействуя с  $\alpha 7$ ,N-холинорецепторами макрофагов, снижает интенсивность секреции фагоцитирующими клетками белка HMGB1 и тем самым в определенной степени также ингибирует продукцию провоспалительных цитокинов [394].

HMGB1 (High Mobility Group Box-1 protein) ранее рассматривался только как фактор транскрипции [395]. Но спектр физиологической активности HMGB1 оказался гораздо шире и включает способность инициировать вторую фазу воспалительной реакции при сепсисе посредством стимуляции продукции провоспалительных цитокинов [396–398]. Оценивая вклад HMGB-1 в генез симптомокомплекса проявлений и формирование исходов септических состояний следует учитывать:

- клетки иммунной системы под влиянием внешних стимулов способны секретировать HMGB-1 во внеклеточную среду, где данный полипептид проявляет свойства провоспалительного цитокина [399–402];
- HMGB-1 может выделяться во внеклеточную среду пассивно при разрушении (при некрозе) клеток различных тканей [403–405] либо активно секретироваться макрофагами и нейтрофилами [406–410];

- появление в экстрацеллюлярном пространстве HMGB-1 воспринимается иммунной системой как сигнал повреждения тканей, т. е. HMGB-1 играет роль «маркера некроза» [399, 401];
- помимо макрофагов, HMGB-1 может обильно секретироваться энтероцитами под влиянием провоспалительных цитокинов (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$ ), агонистов TLR-2 и TLR-5 (флагеллин) [411];
- митохондриальные антигены (CpG DNA, N-формил пептиды) в присутствии других антигенов (липополисахарида, митохондриального фактора транскрипции A-TFAM) проявляют свойства мощных индукторов секреции HMGB-1 моноцитами [412, 413];
- прооксиданты (пероксид водорода) усиливают секрецию HMGB-1 макрофагами и моноцитами [414];
- при тяжелых травматических повреждениях и инфекциях внеклеточный HMGB-1 стимулирует эндотелиоциты экспрессировать молекулы адгезии и активатор плазминогена тканевого типа [415, 416], что ведет к нарушению барьерной функции эндотелиальной выстилки сосудов, экстравазации жидкой части крови, бактериальной транслокации и тканевой гипоперфузии [415–417];
- HMGB-1, продуцируемый эпителиальными клетками, обладает мощным антибактериальным эффектом [418];
- в отличие от цитокинов «раннего» провоспалительного ответа, HMGB-1 секретировается макрофагами спустя два десятка часов после их стимуляции [408–410];
- *M. tuberculosis* в качестве фактора вирулентности секретирует во внешнюю среду TLR-лиганд (HSP65), обладающий выраженным индуцирующим эффектом относительно секреции HMGB-1 макрофагами и моноцитами [419];
- HMGB-1 как один из ключевых медиаторов LPS-индуцированного шока и полиорганной недостаточности является прогностическим биомаркером при септической полиорганной недостаточности [420];
- ингибиторы секреции HMGB-1 (ацетилхолин, никотин), ингибиторы HMGB-1 (этилпитуват, глутамин) способны эффективно купировать проявления септических состояний [421, 422].

Важный патогенетический механизм формирования синдрома комплекса септических состояний — активация фактора ингибирования миграции макрофагов (macrophage Migration Inhibitory Factor — MIF) под влиянием эндо- и экзотоксинов грамотрицательных и грамположительных бактерий, а также некоторых провоспалительных медиаторов (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , C5a), проявляющийся подавлением экспрессии противовоспалительных цитокинов [423, 424]. MIF — протеин, продуцируемый клетками иммунной системы и легочной ткани [425, 426], стимулирующий экспрессию провоспалительных цитокинов и Toll-подобных рецепторов (TLR-4) фагоцитами [427]. Кроме того, провоспалительные эффекты MIF в значительной степени обусловлены блокированием индуцируемого респираторным взрывом (зависимого от белка p-53) апоптоза фагоцитирующих клеток (нейтрофилов, эозинофилов, макрофагов). То есть MIF обеспечивает поддержание жизнеспособности и функциональной гиперактивности (продукция прооксидантов и медиаторов воспаления) стимулированных макрофагов [428]. Накоплен значительный объем данных о способности

MIF модулировать физиологические эффекты множества медиаторов (влияя на трансдукцию сигналов), что при сепсисе, в частности, результируется в гемодинамических расстройствах [429] и, вероятно, в инсулинорезистентности [430]. Утрата анаболической активности инсулина при сепсисе ассоциирована с эндотоксинемией и развивается спустя 7 часов после предъявления провоспалительного стимула [431].

На фоне эндотоксинемии MIF наиболее обильно (что определяет уровень данного цитокина в крови) секретируется клетками переднего отдела гипофиза [432]. И как установлено на клеточной культуре трофобластов, экспрессия MIF высоко значимо проявляется через 8 часов после предъявления специфического стимула [433]. Таким образом, увеличение уровня MIF в биосредах и возникновение инсулин-резистентности при эндотоксинемии по времени могут совпадать. Вместе с тем патобиохимические механизмы инсулин-резистентности при септических состояниях, как и эндогенные лиганды энзиматической активности (тауомеразной и тиол-оксидоредуктазной) MIF до настоящего времени не установлены [434, 435]. В связи с этим можно предположить, что ферментативная активность MIF (изомеразная и тиол-оксидоредуктазная) может проявляться в модулировании структурной организации некоторых рецепторных молекул. Например, известно наличие дисульфид-изомеразного домена в составе инсулинового рецептора, который, по-нашему мнению, претерпевает перестройку дисульфидных связей в процессе рецепции сигнальной молекулы [436]. Естественно, изменение состояния тиол-дисульфидных структур рецептора инсулина под влиянием MIF будет сопровождаться изменением функционального состояния рецепторной молекулы. Помимо данного пути, существует и бета-адренергический механизм формирования инсулин-резистентности [437]. Не исключено, что изменение чувствительности  $\beta$ -адренорецепторов при сепсисе, сопровождающееся нарушением транспорта глюкозы в клетку, может быть ассоциировано с энзиматической активностью MIF. Вероятно, способность MIF модулировать множество сигнальных путей связана именно с тауомеразной активностью цитокина, поскольку модулирование его изомеразной активности сопровождается утратой биологической активности [438].

С учетом роли фактора ингибирования миграции макрофагов (MIF) в патогенезе септических состояний естественно, что подавление экспрессии, ингибирование энзиматической активности, нейтрализация и элиминация из биосред, блокирование рецептор-опосредованных эффектов данного провоспалительного цитокина рассматривались и рассматриваются как перспективные направления терапии сепсиса [439–441]. Ингибирование активности MIF посредством использования антител [424], низкомолекулярных ингибиторов [442] и соединений, блокирующих тауомеразную активность цитокина [443], сопровождается значимым увеличением устойчивости организма к сепсис-индуцирующим воздействиям и снижением смертности в эксперименте. Также известно, что производные гидроксамовых кислот, обладающие оксимной группировкой (-NOH) эффективно ингибируют MIF [444] и способны в определенной степени восстанавливать функциональную активность белков, подвергшихся АДФ-рибозилированию. С целью ингибирования MIF и реактивации фактора элонгации-2 рибосом при лечении септических состояний может оказаться полезным назначение реактиватора ацетилхолинэстеразы дипироксима по 1,0 мл 15% рас-

твора внутримышечно два раза в сутки. Реактиватор ацетилхолинэстеразы дипироксим не способен отменить фармакологические эффекты прозерина (назначаемого в качестве прокинетики), поскольку прозерин не относится к классу фосфорорганических соединений и ковалентно не взаимодействует с ацетилхолинэстеразой.

Отсутствие значимых успехов в профилактике и терапии SIRS/сепсиса в течение последнего столетия послужило побудительным мотивом для того, чтобы попытаться по-новому охватить взглядом патобиохимию данных состояний. С использованием последних достижений фундаментальных исследований в области медико-биологических дисциплин и опыта клиницистов предложена новая модель патогенеза SIRS/сепсиса. Помня об утверждении: «Все модели неверны, но некоторые полезны» (авторство приписывается George E. P. Vox) мы искренне надеемся, что предлагаемая модель патогенеза SIRS/сепсиса относится к категории «некоторых».

## Литература

1. *Arias E., Smith B. L.* Deaths: preliminary data for 2001 // *Natl. Vital. Stat. Rep.* – 2003. – Vol. 51 (5). – P. 1–44.
2. *Angus D. C., Linde-Zwirbel W. T., Lidicker J.* et al. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome and associated cost of care // *Crit. Care Med.* – 2001. – Vol. 29 (7). – P. 1303–1310.
3. *Annane D., Bellissant E., Cavaillon J.-M.* Septic shock // *Lancet.* – 2005. – Vol. 365 (9453). – P. 63–78.
4. *Bengmark S.* Bioecological control of acute and chronic disease: the role of pro- and synbiotics // *Kuwait Med. J.* – 2007. – Vol. 39 (3). – P. 216–226.
5. *Martin G. S., Mannino D. M., Eaton S., Moss M.* The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000 // *N. Engl. J. Med.* – 2003. – Vol. 348 (16). – P. 15–46–1554.
6. *Annane D., Aegerter P., Jars-Guincestre M. C., Guidet B.* Current epidemiology of septic shock: the CUB-Rea Network // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2003. – Vol. 168 (2). – P. 165–172.
7. *Alberti C., Burn-Buisson C., Buchardi H.* et al. Epidemiology of sepsis and infection in ICU patients from an international multicentric cohort study // *Intens. Care Med.* – 2002. – Vol. 28 (2). – P. 108–121.
8. *Saha R., Das S., Chatterjee R., Kaur I.* The pathophysiology of septic shock // *Int. J. Pharm. Bio. Sci.* – 2010. – Vol. 1 (2). – P. 1–10.
9. *Vincent J. L., Sakr Y., Sprung C. L.* et al. Sepsis in European intensive care units: results of the SOAP study // *Crit. Care Med.* – 2006. – Vol. 34 (2). – P. 344–353.
10. *Stanford J. P.* Epidemiology and overview of the problem // *Septic shock* / eds.: R. K. Root, M. A. Sande. – N. Y.: Churchill Livingstone, 1985. – P. 1–11.
11. *Yegenaga I., Tuglular S., Ari E.* et al. Evaluation of sepsis/systemic inflammatory response syndrome, acute kidney injury, and RIFLE criteria in two tertiary hospital intensive care units in Turkey // *Nephron. Clin. Pract.* – 2010. – Vol. 115 (4). – P. C276–C282.
12. *Claessens Y. E., Dhainaut J. F.* Diagnosis and treatment of severe sepsis // *Crit. Care.* – 2007. – Vol. 11 (Suppl. 5). – P. S2.

13. *Dellinger R. P., Levy M. M., Carlet J. M. et al.* Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock // *Crit. Care Med.* – 2008. – Vol. 36 (1). – P. 296–327.
14. American college of chest physicians/society of critical care medicine consensus conference: definition for sepsis and organ failure and guidelines for use of innovative therapies in sepsis // *Crit. Care Med.* – 1992. – Vol. 20 (6). – P. 864–874.
15. *Levy M. M., Fink M. P., Marshall J. C. et al.* SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS: International sepsis definition conference // *Crit. Care Med.* – 2003. – Vol. 31 (4). – P. 1250–1256.
16. *Sprung C. L., Sakr Y., Vincent J.-L. et al.* An evaluation of systemic inflammatory response syndrome signs in the sepsis occurrence in acutely ill patients (SOAP) study // *Intens. Care Med.* – 2006. – Vol. 32 (3). – P. 421–427.
17. *Comstedt P., Storgaard M., Lassen A.* The systemic inflammatory response syndrome (SIRS) in acutely hospitalized medical patients: a cohort study // *Scand. J. Trauma Resuscitat. Emerg. Med.* – 2009. – Vol. 17 (1). – P. 67.
18. *Бочоришвили В. Г.* Сепсисология с основами инфекционной патологии. – Тбилиси: Мецниереба. – 1988. – Т. 1. – 806 с.
19. *Сергеев М. М., Зинкин А. Н.* Роль инфекции и системного воспалительного ответа в патогенезе гнойно-септических осложнений риносинуситов у детей // *Рос. оториноларингология.* – 2004. – Vol. 6 (13). – P. 183–188.
20. *Ребенок Ж. А.* Сепсис – инфекционная болезнь в иммунонедостаточном организме. <http://medsociety.com/sepsis-infektsionnaya-bolezn>.
21. *Knaus W. A., Sun X., Nystrom P.-O., Wagner D. P.* Evaluation of definition for sepsis // *Chest.* – 1992. – Vol. 101 (6). – P. 1656–1662.
22. *Bone R. C., Balk R. A., Cerra F. B. et al.* Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee American College of Chest Physicians // Society of Critical Care Medicine *Chest.* – 1992. – Vol. 101 (6). – P. 1644–1655.
23. Сепсис в начале XXI века: классификация, клинико-диагностическая концепция и лечение. Методические рекомендации РАСХИ. – М., 2004. – 128 с.
24. *Kumar A., Roberts D., Wood K. E. et al.* Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock // *Crit. Care Med.* – 2006. – Vol. 34 (6). – P. 1589–1596.
25. *Azevedo L. C., Park M., Schettino G. P.* Novel potential therapies for septic shock // *Shock.* – 2008. – Vol. 30 (Suppl. 1). – P. 60–66.
26. *Okazaki Y., Matsukawa A.* Pathophysiology of sepsis and recent patents on the diagnosis, treatment and prophylaxis for sepsis // *Recent Pat. Inflamm. Allergy Drug Disc.* – 2009. – Vol. 3 (1). – P. 26–32.
27. *Kofoed K., Zalounina A., Andersen O. et al.* Performance of the TREAT decision support system in an environment with a low prevalence of resistant pathogens // *J. Antimicrob. Chemother.* – 2009. – Vol. 63 (2). – P. 400–404.
28. *Poyton R. O., McEwen J. E.* Crosstalk between nuclear and mitochondrial genomes // *Ann. Rev. Biochem.* – 1996. – Vol. 65. – P. 563–607.
29. *Dobson G. P., Himmelreich U.* Heart design: free ADP scales with absolute mitochondrial and myofibrillar volumes from mouse to human // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2002. – Vol. 1553 (3). – P. 261–267.
30. *Маргелис Л.* Роль симбиоза в эволюции клетки. – М.: Мир, 1983. – 352 с.



31. Zhang Q., Raoof M., Chen Y. Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury // *Nature*. – 2010. – Vol. 464 (7285). – P. 104–107.
32. Jabbari K., Bernardi G. Cytosine methylation and CpG, TpG (CpA) and TpA frequencies // *Gene*. – 2004. – Vol. 333. – P. 143–149.
33. Chockaligam A., Lopez J. L., Brooks J. C., Leifer C. A. Toll-like receptor 9 constitutively traffics from the ER to the lysosome prior to stimulation with CpG DNA // *FASEB J.* – 2008. – Vol. 22. – P. 672–678.
34. Chockaligam A., Brooks J. C., Cameron J. L. et al. TLR9 traffics through the Golgi complex to localize to endolysosomes and respond to CpG DNA // *Immunol Cell Biol.* – 2009. – Vol. 87 (3). – P. – 209–217.
35. Akira S., Takeda K. Toll-like receptor signaling // *Nat. Rev. Immunol.* – 2004. – Vol. 4 (7). – P. 499–511.
36. Knuefman P., Baumgarten G., Koch A. et al. CpG oligonucleotide activates Toll-like receptor 9 and causes lung inflammation in vivo // *Respir. Res.* – 2007. – Vol. 8 (1). – P. 72.
37. Plitas G., Burt B. M., Nguyen H. M. et al. Toll-like receptor 9 inhibition reduces mortality in polymicrobial sepsis // *J. Exp. Med.* – 2008. – Vol. – 205 (6). – P. 1277–1283.
38. Le Y., Murphy P. M., Wang J. M. Formyl-peptide receptor revisited // *Trends Immunol.* – 2002. – Vol. 23 (11). – P. 541–548.
39. Le Y., Wang J. M., Lin X. et al. Biologically active peptides interacting with the G protein-coupled formylpeptide receptor // *Protein Pept. Lett.* – 2007. – Vol. 14 (9). – P. 846–853.
40. Partida-Sanchez S., Cockayne D. A., Monard S. et al. Cyclic ADP-ribose production by CD38 regulates intracellular calcium release, extracellular calcium influx and chemotaxis in neutrophils and is regulated for bacterial clearance *in vivo* // *Nat. Med.* – 2001. – Vol. 7. – P. 1209–1216.
41. Panaro M. A., Acquafredda A., Sisto M. et al. Biological role of the N-formyl peptide receptors // *Immunopharm. Immunotoxicol.* – 2006. – Vol. 28 (1). – P. 103–127.
42. Zhu P., Liu X., Trempl L. S. et al. Mechanism and regulatory function of CpG signaling via scavenger receptor-B1 in primary B cells // *J. Biol. Chem.* – 2009. – Vol. 284 (34). – P. 22878–22887.
43. Crabtree G. R. Generic signals and specific outcomes: signaling through Ca<sup>2+</sup>, calcineurin, and NF-AT // *Cell*. – 1999. – Vol. 96 (5). – P. 611–614.
44. Zalk R., Lehnart S. E., Marks A. R. Modulation of the ryanodine receptor and intracellular calcium // *Annu. Rev. Biochem.* – 2007. – Vol. 76. – P. 367–385.
45. Gyorke S., Terentyev D. Modulation of ryanodine receptor by luminal calcium and accessory proteins in health and cardiac disease // *Cardiovasc. Res.* – 2008. – Vol. 77. – P. 245–255.
46. Wehrens X. H., Marks A. R. Novel therapeutic approaches for heart failure by normalizing calcium cycling // *Nat. Rev. Drug Discov.* – 2004. – Vol. 3 (7). – P. 565–573.
47. Choe C.-Un, Ehrlich B. E. The inositol 1,4,5-trisphosphate receptors (IP<sub>3</sub>R) and its regulators: sometimes good and sometimes bad teamwork // *Sci. STKE*. – 2006. – Vol. 363. – P. 15.
48. Bezprozvanny I. The inositol 1,4,5-trisphosphate receptors // *Cell Calcium*. – 2005. – Vol. 38 (3–4). – P. 261–309.
49. Brailoiu E., Churamani D., Cai X. et al. Essential requirement for two-pore channel 1 in NAADP-mediated calcium signaling // *J. Cell. Biol.* – 2009. – Vol. 186 (2). – P. 201–209.

50. *Messutat S., Heine M., Wicker D.* Calcium-induced calcium release in neurosecretory insect neurons: fast and slow responses // *Cell Calcium*. – 2001. – Vol. 30 (3). – P. 199–211.
51. *Roderick H. L., Berridge M. J., Bootman M. D.* Calcium-induced calcium release // *Curr. Biol*. – 2003. – Vol. 13 (11). – P. R425.
52. *Verkhratsky A.* Physiology and pathophysiology of the calcium store in the endoplasmic reticulum of neurons // *Physiol. Rev.* – 2005. – Vol. 85 (1). – P. 201–279.
53. *Foskett J. K., White C., Cheung K.-H., Mak D.-O. D.* Inositol trisphosphate receptor  $\text{Ca}^{2+}$  release channel // *Physiol. Rev.* – 2007. – Vol. 87 (2). – P. 593–658.
54. *Yamamoto K., Nakano M., Hashimoto K. et al.* Emergence of a functional coupling between inositol-1,4,5-trisphosphate receptors and calcium channels in developing neocortical pyramidal neurons // *Neurosci.* – 2002. – Vol. 109 (4). – P. 677–685.
55. *Higashida H., Hashii M., Yokoyama S. et al.* Cyclic ADP-ribose a potential second messenger for neuronal  $\text{Ca}^{2+}$  signaling // *J. Neurochem.* – 2001. – Vol. 76 (2). – P. 321–331.
56. *Pollock J., Crawford J. H., Wootton J. F. et al.* A comparison between the distinct inward currents activated in rat cultured DRG neurons by intracellular flash photolysis of two forms of caged cGMP // *Neurosci. Lett.* – 2003. – Vol. 338 (2). – P. 143–146.
57. *Zhu M. X., Ma J., Parrington J. et al.* Calcium signaling via two-pore channels. – P. local or global, that is the question // *Am. J. Cell Physiol.* – 2010. – Vol. 298 (3). – P. C430–C441.
58. *Aramburu J., Rao A., Klee C.* Calcineurin: from structure to function // *Curr. Top. Cell. Regul.* – 2000. – Vol. 36. – P. 273–295.
59. *Rusnak F., Martz P.* Calcineurin: form and function // *Physiol. Rev.* – 2000. – Vol. 80. – P. 1483–1521.
60. *Kissinger C. R., Parge H. E., Knighton D. R. et al.* Crystal structures of human calcineurin and the human FKBP12-FK506-calcineurin complex // *Nature*. – 1995. – Vol. 378 (6557). – P. 641–644.
61. *Karin M.* The regulation of AP-1 activity by mitogen-activated protein kinases // *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* – 1996. – Vol. 351 (1336). – P. 127–134.
62. *Karin M., Liu Z., Zondi E.* AP-1 function and regulation // *Curr. Opin. Cell. Biol.* – 1997. – Vol. 9 (2). – P. 240–246.
63. *Macian F., Lopez-Rodriguez C., Rao A.* Partners in transcription: NFAT and AP-1 // *Oncogene*. – 2001. – Vol. 20. – P. 2476–2489.
64. *Yoneyama M., Suhara W., Fujita T.* Control of IRF-3 activation by phosphorylation // *J. Interferon Cytokine Res.* – 2002. – Vol. 22 (1). – P. 73–76.
65. *Vanlaere I., Libert C.* Matrix metalloproteinases as drug targets in infections caused by gram-negative bacteria and in septic shock // *Clin. Microbiol. Rev.* – 2009. – Vol. 22 (2). – P. 224–239.
66. *Nagase H., Woessner J. F.* Matrix metalloproteinases // *J. Biol. Chem.* – 1999. – Vol. 274 (31). – P. 21491–21494.
67. *Somerville R. P. T., Oblander S. A., Apte S. S.* Matrix metalloproteinases: old dog with new tricks // *Genome Biol.* – 2003. – Vol. 4 (6). – P. 216.
68. *Chuai S., Hu T., Liu J., Shen X.* Regulation of the arachidonic acid-stimulated respiratory burst in neutrophils by intracellular and extracellular calcium // *Chin. Sci. Bull.* – 2001. – Vol. 46 (4). – P. 314–317.

69. Walker G., Kunz D., Pignat W. et al. Suppression by cyclosporine A of interleukin 1 beta-induced expression of group II phospholipase A2 in rat mesangial cells // *Br. J. Pharmacol.* – 1997. – Vol. 121 (4). – P. 787–793.

70. Huang Z.-F., Massey J. B., Via D. P. Differential regulation of cyclooxygenase-2 (COX-2) mRNA stability by interleukin-1 B (IL-1B) and tumor necrosis factor-A (TNF-A) in human *in vitro* differentiated macrophages – an essential regulator of NO-mediated apoptosis // *Biochem. Pharmacol.* – 2000. – Vol. 59 (2). – P. 187–194.

71. Schievella A. R., Regier M. K., Smith W. L., Lin L. L. Calcium-mediated translocation of cytosolic phospholipase A2 to the nuclear envelope and endoplasmic reticulum // *J. Biol. Chem.* – 1995. – Vol. 270 (51). – P. 30749–30754.

72. Cummings B. S., McHowat J., Schnellman R. G. Phospholipase A (2)s in cell injury and death // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2000. – Vol. 294 (3). – P. 793–799.

73. Pompeia C., Freitas J. J. S., Kim J. S. et al. Arachidonic acid cytotoxicity in leukocytes: implications of oxidative stress and eicosanoid synthesis // *Biol. Cell.* – 2002. – Vol. 94 (45). – P. 251–256.

74. Lee S. M., Cheung C. Y., Nicholls J. M. et al. Hyperinduction of cyclooxygenase-2-mediated proinflammatory cascade: a mechanism for the pathogenesis of avian influenza H5N1 infection // *J. Infect. Dis.* – 2008. – Vol. 198 (4). – P. 525–535.

75. Gabryel B., Chalimoniuk M., Stolecka A. et al. Inhibition of arachidonic acid release by cytosolic phospholipase A2 is involved in the antiapoptotic effect of FK 506 and cyclosporine A on astrocytes exposed to simulated ischemia *in vitro* // *J. Pharmacol. Sci.* – 2006. – Vol. 102 (1). – P. 77–87.

76. Scorrano L., Penzo D., Pertoulli V. et al. Arachidonic acid causes cell death through the mitochondrial permeability transition. Implication for tumor necrosis factor-alpha apoptotic signaling // *J. Biol. Chem.* – 2001. – Vol. 276 (15). – P. 12035–12040.

77. Frederiks W. M., Vreeling-Sindelarova H. Ultrastructural localization of xanthine oxidoreductase activity in isolated rat liver cells // *Acta Histochem.* – 2002. – Vol. 104 (1). – P. 29–37.

78. Linder N., Martelin E., Lapatto R., Raivio K. O. Posttranslation inactivation of human xanthine oxidoreductase by oxygen under standard cell culture conditions // *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* – 2003. – Vol. 285 (1). – P. C48–C55.

79. Brandes R. P., Koddenberg G., Gwinner W. et al. Role of increased production of superoxide anions by NAD (P)H oxidase and xanthine oxidase in prolonged endotoxemia // *Hypertension.* – 1999. – Vol. 33 (5). – P. 1243–1249.

80. Page S., Powell D., Benbouberta M. et al. Xanthine oxidoreductase in human mammary epithelial cells: activation in response to inflammatory cytokines // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1998. – Vol. 1381 (2). – P. 191–202.

81. Spiekerman S., Landmesser U., Dikalov S. et al. Electron spin resonance characterization of vascular xanthine and NAD (P)H oxidase activity in patients with coronary artery disease: relation to endothelium-dependent vasodilation // *Circulation.* – 2003. – Vol. 107 (10). – P. 1243–1249.

82. Rouquette M., Page S., Bryant R. et al. Xanthine oxidoreductase is asymmetrically localized on the outer surface of human endothelial and epithelial cells in culture // *FEBS Lett.* – 1988. – Vol. 426 (3). – P. 397–401.

83. Jansson E. A., Huang L., Malkey R. et al. A mammalian functional nitrate reductase that regulates nitrite and nitric oxide homeostasis // *Nat. Chem. Biol.* – 2008. – Vol. 4 (7). – P. 411–417.

84. *Pacher P., Nivorozhkin A., Szabo C.* Therapeutic effects of xanthine oxidase inhibitors: renaissance half century after discovery of allopurinol // *Pharmacol. Rev.* – 2006. – Vol. 58 (1). – P. 87–114.
85. *George J., Struthers A. D.* Role of urate, xanthine oxidase and the effects of allopurinol in vascular oxidative stress // *Vascular Health Risk Management.* – 2009. – Vol. 5 (1). – P. 256–272.
86. *Dolganova A., Sharonov B. P.* Application of various antioxidants in the treatment of influenza // *Brazilian J. Med. Biol. Res.* – 1997. – Vol. 30 (11). – P. 1333–1336.
87. *Harris C. M., Massey V.* The reaction of reduced xanthine dehydrogenase with molecular oxygen – reaction kinetics and measurement of superoxide radical // *J. Biol. Chem.* – 1997. – Vol. 272 (13). – P. 8370–8379.
88. *Boueiz A., Damarla M., Hassoun P. M.* Xanthine oxidoreductase in respiratory and cardiovascular disorders // *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* – 2008. – Vol. 294 (5). – P. L830–L840.
89. *Doel J. J., Godber B. L. J., Eisenthal R., Harrison R.* Reduction of organic nitrates catalyzed by xanthine oxidoreductase under anaerobic conditions // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2001. – Vol. 1527 (1–2). – P. 81–87.
90. *Adochi T., Fukushima T., Usami Y., Hirano K.* Binding of human xanthine oxidase to sulphated glycosaminoglycans on the endothelial cell surface // *Biochem. J.* – 1993. – Vol. 289. – P. 523–527.
91. *Doherty D. E., Nakano J., Nakano K.* Neutrophil-derived heparin binding protein // *Chest.* – 1999. – Vol. 116 (1). – P. 34S–35S.
92. *Sawyer D. T.* Oxygen complexes and oxygen activation by transition metals / Eds.: A. E. Martell, D. T. Sawyer. – N.-Y.; London: P. Plenum Press, 1988. – P. 131–147.
93. *Владимиров Ю. А., Азизова О. А., Деев А. И. и др.* Свободные радикалы в живых системах. Биофизика. (Итоги науки и техники ВИНТИ АН СССР). – М.: ВИНТИ, 1991. – №. 29. – 252 с.
94. *Янковский О. Ю.* Токсичность кислорода и биологические системы (эволюционные, экологические и медико-биологические аспекты). – СПб.: Игра, 2000. – 294 с.
95. *Morris C. J., Earl J. R., Trenam C. W.* Reactive oxygen species and iron – a dangerous partnership in inflammation // *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* – 1995. – Vol. 27 (2). – P. 103–122.
96. *Ewaschuk J. B., Backer J. L., Churchill T. A. et al.* Surface expression of Toll-like receptor 9 is upregulated on intestinal epithelial cells in response to pathogenic bacterial DNA // *Infect. Immun.* – 2007. – Vol. 75 (5). – P. 2572–2579.
97. *Munford R. S.* Sepsis and septic shock Harrison's Principles of Internal Medicine / Eds.: Braunwald E., Fauci A. S., Kasper D. L., Hauser S. L., Longo D. L., Jameson J. L. – N. Y.: McGraw-Hill, 2001. – P. 1695–1702.
98. *Engelmann M., Landgraf R., Wotjak C. T.* The hypothalamic-neurohypophysial system regulates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis under stress: an old concept revisited // *Front. Neuroendocrinol.* – 2004. – Vol. 25 (3–4). – P. 132–149.
99. *Tsigos C., Chrousos G. P.* Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress // *J. Psychosom. Res.* – 2002. – Vol. 53 (4). – P. 865–871.
100. *Charmandary E., Tsigos C., Chrousos G.* Endocrinology of the stress response // *Annu. Rev. Physiol.* – 2005. – Vol. 67. – P. 259–284.
101. *Teitelbaum A. A., Gareau M. G., Jury J. et al.* Chronic peripheral administration of corticotrophin-releasing factor causes colonic barrier dysfunction similar to

psychological stress // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2008. – Vol. 295 (3). – P. G452–G459.

102. *Binder E. B., Nemeroff C. B.* The CRF system, stress, depression and anxiety – insights from human genetic studies // *Mol. Psychiatry.* – 2009. – doi:10.1038/mp.2009.141.

103. *Free C. A., Paik V. S.* Adrenal steroidogenic action of cyclic nucleotide derivatives in rat // *Endocrinol.* – 1977. – Vol. 100 (5). – P. 1287–1293.

104. *Rae P. A., Gutmann N. S., Tsao J., Schimmer B. P.* Mutations in cyclic AMP-dependent protein kinase and corticotrophin (ACTH)-sensitive adenylate cyclase affect adrenal steroidogenesis // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1979. – Vol. 76 (4). – P. 1896–1900.

105. *Fraites M. J. P., Cooper R. L., Buckalew A.* et al. Characterization of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis response to atrazine and metabolites in the female rat // *Toxicol. Sci.* – 2009. – Vol. 112 (1). – P. 88–99.

106. *Hauger R. L., Grigoriadis D. E., Dallman M. F.* et al. International Union of Pharmacology. Current status of the nomenclature for receptors for corticotrophin-releasing factor and their ligands // *Pharmacol. Rev.* – 2003. – Vol. 55 (1). – P. 21–26.

107. *Bale T. L., Vale W. W.* CRF and CRF receptor: role in stress responsivity and other behaviors // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* – 2004. – Vol. 44. – P. 525–557.

108. *Porcher C., Peinnequin A., Pellissier S.* et al. Endogenous expression and *in vitro* study of CRF-related peptides and CRF receptors in the rat gastric antrum // *Peptides.* – 2006. – Vol. 27 (6). – P. 1464–1475.

109. *Grigoriadis D. E., Lovenberg T. W., Chalmers D. T.* et al. Characterization of corticotrophin-releasing factor receptor subtypes // *Annu. N. Y. Acad. Sci.* – 1996. – Vol. 780. – P. 60–80.

110. *Black P. H.* Stress and the inflammatory response: a review of neurogenic inflammation // *Brain Behav. Immun.* – 2002. – Vol. 16 (6). – P. 622–653.

111. *Hillhouse E. W., Grammatopoulos D. K.* The molecular mechanisms underlying the regulation of the biological activity of corticotrophin-releasing hormone receptors: implications for physiology and pathophysiology // *Endocr. Rev.* – 2006. – Vol. 27 (3). – P. 260–286.

112. *Grossini E., Molinari C., Mary D. A.* et al. Urocortin II induces nitric oxide production through cAMP and Ca<sup>2+</sup> related pathways in endothelial cells // *Cell Physiol. Biochem.* – 2009. – Vol. 23 (1–3). – P. 87–96.

113. *Gutknecht E., Van der Linden I., Van Kolen K.* et al. Molecular mechanisms of corticotrophin-releasing factor receptor-induced calcium signaling // *Mol. Pharmacol.* – 2009. – Vol. 75 (3). – P. 648–657.

114. *Larauche M., Kiank C., Tache Y.* Corticotropin releasing factor signaling in colon and ileum: regulation by stress and pathophysiological implications // *J. Physiol.* – 2009. – Vol. 60 (7). – P. 33–46.

115. *Bunnett N. W.* The stressed gut: contribution of intestinal stress peptides to inflammation and motility // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2005. – Vol. 102 (21). – P. 7409–7410.

116. *Stengel A., Tache Y.* Neuroendocrine control of the gut during stress: P. corticotrophin-releasing factor signaling pathways in the spotlight // *Annu. Rev. Physiol.* – 2009. – Vol. 71. – P. 219–240.

117. *Lenz H. J., Burlage M., Readler A., Greten H.* Central nervous system effects of corticotrophin-releasing factor on gastrointestinal transit in rat // *Gastroenterol.* – 1983. – Vol. 94 (3). – P. 598–602.

118. Von Mentzer B., Murata Y., Ahlstedt I. et al. Functional CRF receptor in BON cells stimulate serotonin release // *Biochem. Pharmacol.* – 2007. – Vol. 73 (6). – P. 805-813.
119. Cao J., Papadopoulou N., Kepuraj D. et al. Human mast cells express corticotrophin-releasing hormone (CRF) receptors and CRF leads to selective secretion of vascular endothelial growth factor // *J. Immunol.* – 2005. – Vol. 174 (12). – P. 7665-7675.
120. Kiank C., Tache Y., Larauche M. Stress-related modulation of inflammation in experimental models of bowel disease and post-infectious irritable bowel syndrome: role of corticotrophin-releasing factor receptors // *Brain Behav. Immun.* – 2010. – Vol. 24 (1). – P. 41-48.
121. Singh L. K., Boucher W., Pang X. et al. Potent mast cell degranulation and vascular permeability triggered by urocortin through activation of corticotrophin-releasing hormone receptors // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 1999. – Vol. 288 (3). – P. 1349-1356.
122. Singh L. K., Leu S. J. Enhancing effect of corticotrophin-releasing neurohormone on the production of interleukin-1 and interleukin-2 // *Neurosci. Lett.* – 1990;120. – P. 151-154.
123. Tsatsanis C., Androulidaki A., Alissafi T. et al. Corticotropin-releasing factor and the urocortins induce the expression factor PU.1 and AP-1 // *J. Immunol.* – 2006. – Vol. 176 (3). – P. 1869-77.
124. Lee H. J., Kwon Y. S., Park C. O. et al. Corticotropin-releasing factor decreases IL-18 in the monocyte-derived dendritic cell // *Exp. Dermatol.* – 2009. – Vol. 18 (3). – P. 199-204.
125. Castagliuolo I., Lamont J. T., Qiu B. et al. Acute stress causes mucin release from rat colon: role of corticotrophin-releasing factor and mast cells // *Am. J. Physiol.* – 1996. – Vol. 271 (5 Pt. 1). – P. G884-G892.
126. Pfeiffer C. J., Qiu B., Lam S. K. Reduction of colonic mucus by repeated short-term stress enhances experimental colitis in rats // *J. Physiol. (Paris)*. – 2001. – Vol. 95 (1-6). – P. 81-87.
127. Aberg K. M., Radek K. A., Choi E. H. et al. Psychological stress down regulates epidermal antimicrobial peptide expression and increases severity of cutaneous infections in mice // *J. Clin. Invest.* – 2007. – Vol. 117 (11). – P. 3339-3349.
128. Santos J., Saunders P. R., Hanssen N. P. et al. Corticotropin-releasing hormone mimics stress-induced colonic epithelial pathophysiology in the rat // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 1999. – Vol. 227 (2). – P. G391-G399.
129. Saunders P. R., Maillot C., Million M., Tache Y. Peripheral corticotrophin-releasing factor induces diarrhea in rats: P. role of CRF1 receptor in fecal watery excretion // *Eur. J. Pharmacol.* – 2002. – Vol. 435 (2-3). – P. 231-235.
130. Saunders P. R., Santos J., Hanssen N. P. et al. Physical and psychological stress in rat enhances colonic epithelial permeability via peripheral CRH // *Dig. Dis. Sci.* – 2002. – Vol. 47 (1). – P. 208-215.
131. Larauche M., Gourcerol G., Wang L. et al. Cortagine, a CRF1 agonist, induces stresslike alterations of colonic function and visceral hypersensitivity in rodents primarily through peripheral pathways // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2009. – Vol. 297 (1). – P. G215-G227.
132. Yuan P.-Q., Wu S. V., Wang L., Tache Y. Corticotropin releasing factor in the rat colon: expression, localization and upregulation by endotoxin // *Peptides.* – 2010. – Vol. 31 (2). – P. 322-331.

133. *Wlk M., Wang C. C., Venihaki M.* et al. Corticotropin-releasing hormone antagonists possess anti-inflammatory effects in the mouse ileum // *Gastroenterol.* – 2002. – Vol. 123 (2). – P. 505-515.
134. *Anton P. M., Gay J., Mykoniatis A.* et al. Corticotropin-releasing hormone (CRH) requirement in *Clostridium difficile* toxin A-mediated intestinal inflammation // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2004. – Vol. 101 (22). – P. 8503-8508.
135. *La Fleur S. E., Wick E. C., Idumalla P. S.* et al. Role of peripheral corticotrophin-releasing factor and urocortin II in intestinal inflammation and motility in terminal ileum // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2005. – Vol. 102 (21). – P. 7647-7652.
136. *Castagliuolo I., Riegler M., Pasha A.* et al. Neurokinin-1 (NK-1) receptor is required in *Clostridium difficile*-induced enteritis // *J. Clin. Invest.* – 1998. – Vol. 101 (8). – P. 1547-1550.
137. *Groneberg D. A., Quarcoo D., Frossard N., Fischer A.* Neurogenic mechanisms in bronchial inflammatory disease // *Allergy.* – 2004. – Vol. 59 (11). – P. 1139-1152.
138. *O`Connor T. M., O`Connel J., O`Brien D. I.* et al. The role of substance P in inflammatory disease // *J. Cell. Physiol.* – 2004. – Vol. 201 (2). – P. 167-180.
139. *Bhatia M., Moochhala S.* Role of inflammatory mediators in the pathophysiology of acute respiratory distress syndrome // *J. Pathol.* – 2004. – Vol. 202. – P. 145-156.
140. *McGowan K., Guerina V., Wicks J., Donowitz M.* Secretory hormones of *Entamoeba histolitica* // *Ciba Found. Symp.* – 1985. – Vol. 112. – P. 139-154.
141. *Zhang H., Hegle A., Ng S. W.* et al. Hydrogen sulfide up-regulates substance P in polymicrobial sepsis-associated lung injury // *J. Immunol.* – 2007. – Vol. 179 (6). – P. 4153-4160.
142. *Bhatia M.* Hydrogen sulfide and substance P in inflammation // *Antioxid. Redox Signal.* – 2010. – Vol. 12 (10). – P. 1191-1202.
143. *Stengel A., Tache Y.* Cotricotropin-releasing factor signaling and visceral response to stress // *Exp. Biol. Med.* – 2010. – Vol. 235. – P. 1168-1178.
144. *Girish C., Manikandan S.* Aprepitant: a substance P antagonist for chemotherapy induced nausea and vomiting // *Ind. J. Cancer.* – 2007. – Vol. 44 (1). – P. 25-30.
145. *Puneet P., Hegde A., Ng S. W.* Preprotachykinin-A gene products are key mediators of lung injury in polymicrobial sepsis // *J. Immunol.* – 2006. – Vol. 176 (6). – P. 3813-3820.
146. *Ng S. W., Zhang H., Hegde A., Bhatia M.* Role of preprotachykinin-A gene products on multiple organ injury in LPS-induced endotoxemia // *J. Leukoc. Biol.* – 2008. – Vol. 83. – P. 288-295.
147. *Bregeon F., Steinberg J. G., Andreotti N.* et al. Substance P receptor blockade decreases stretch-induced lung cytokines and lung injury in rats // *J. Physiol.* – 2010. – Vol. 588 (8). – P. 1309-1319.
148. *Sio S. W. S., Moochhala S., Lu J., Bhatia M.* Early protection from burn-induced acute lung injury by deletion of preprotachykinin-A gene // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2010. – Vol. 181 (1). – P. 36-46.
149. *Chrousos G. P.* The stress response and immune function: clinical implications: The 1999 Novera H. Spector Lecture Annu. // *N. Y. Acad. Sci.* – 2000. – Vol. 917. – P. 38-63.
150. *Dunn A. J.* Cytokine activation of the HPA axis Annu // *N. Y. Acad. Sci.* – 2000. – Vol. 917. – P. 608-617.
151. *Dunn A. J.* Effects of cytokines and infections on brain neuro-chemistry // *Clin. Neurosci. Res.* – 2006. – Vol. 6 (1-2). – P. 52-68.

152. Rorato R., Menezes A. M., Giusti-Paiva A. et al. Prostaglandin mediates endotoxemia-induced hypophagia by activation of proopiomelanocortin and corticotrophin-releasing factor neurons in rats // *Exp. Physiol.* – 2009. – Vol. 94 (3). – P. 371–379.
153. Schiltz J. C., Sawchenko P. E. Signaling the brain in systemic inflammation: the role of perivascular cells // *Front Biosci.* – 2003. – Vol. 8. – P. S1321–S1329.
154. Saper C. B. The dance of the perivascular and endothelial cells: mechanisms of brain response to immune signaling // *Neuron.* – 2010. – Vol. 65 (1). – P. 4–6.
155. Serrats J., Schiltz J. C., Garcia-Bueno B. et al. Dual roles for perivascular macrophages in immune-to brain signaling // *Neuron.* – 2010. – Vol. 65 (1). – P. 94–106.
156. Kis B., Isse T., Snipes J. A. et al. Effects of LPS stimulation on the expression of prostaglandin carriers in the cells of the blood-brain and blood-cerebrospinal fluid barriers // *J. Appl. Physiol.* – 2006. – Vol. 100 (4). – P. 1392–1399.
157. Cole R. L., Sawchenko P. E. Neurotransmitter regulation of cellular activation and neuropeptide gene expression in the paraventricular nucleus of the hypothalamus // *J. Neurosci.* – 2002. – Vol. 22 (3). – P. 959–969.
158. Kang Y.-M., He R.-L., Yang L.-M. et al. Brain tumor necrosis factor-(alpha) modulates neurotransmitters in hypothalamic paraventricular nucleus in heart failure // *Cardiovasc. Res.* – 2009. – Vol. 83 (4). – P. 737–746.
159. Korosi A., Shanabroug M., McClelland S. et al. Early-life experience reduces excitation to stress-responsive hypothalamic neurons and reprograms the expression of corticotrophin-releasing hormone // *J. Neurosci.* – 2010. – Vol. 30 (2). – P. 703–713.
160. Zhang Z.-H., Felder R. B. Hypothalamic CRF and norepinephrine mediate sympathetic and cardiovascular response to acute intracarotid injection of TNF- $\alpha$  in the rat // *J. Neuroendocrinol.* – 2008. – Vol. 20 (8). – P. 978–987.
161. Yu Y., Zhang Z.-H., Wei S.-G. et al. Brain perivascular macrophages and the sympathetic response to inflammation in rats after myocardial infarction // *Hypertension.* – 2010. – Vol. 55 (3). – P. 652–659.
162. Zhou M., Hank Simms H., Wang P. Increased gut-derived norepinephrine release in sepsis: up-regulation of intestinal tyrosine hydroxylase // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2004. – Vol. 1689 (3). – P. 212–218.
163. Serova L. I., Gueorguieva V., Cheng S. Y., Sabban E. L. Adrenocorticotrophic hormone elevates gene expression for catecholamine biosynthesis in rat superior cervical ganglia and locus coeruleus by an adrenal independent mechanism // *Neurosci.* – 2008. – Vol. 153 (4). – P. 1380–1389.
164. Gavrilovic L., Spasojevc N., Dronjak S. Psychosocial stress-related changes in gene expression of norepinephrine biosynthetic enzymes in stellate ganglia of adult rats // *Auton. Neurosci.* – 2009. – Vol. 150 (1–2). – P. 144–146.
165. Armando L., Lemoine A. P., Segura E. T., Barontini M. B. The stress-induced reduction in monoamine oxidase (MAO) A activity is reversed by benzodiazepines: role of peripheral benzodiazepine receptor // *Cell. Mol. Neurobiol.* – 1993. – Vol. 13 (6). – P. 593–600.
166. Ogburn K. D., Bottiglieri T., Wang Z., Figueiredo-Pereira M. E. Prostaglandin J2 reduces catechol-O-methyltransferase activity and enhances dopamine toxicity in neuronal cells // *Neurobiol. Dis.* – 2006. – Vol. 22 (2). – P. 294–301.
167. Flierl M. A., Rittirsch D., Huber-Lang M. et al. Catecholamines – crafty weapons in the inflammatory arsenal of immune/inflammatory cells or opening Pandora's box? // *Mol. Med.* – 2008. – Vol. 14 (3–4). – P. 195–204.



168. Yang S., Koo D. J., Zhou M. et al. Gut-derived norepinephrine plays a critical role in producing hepatocellular dysfunction during early sepsis // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2000. – Vol. 279. – P. G1274–G1281.

169. Yang S., Zhou M., Chaudry I. H., Wang P. Norepinephrine-induced hepatocellular dysfunction in early sepsis is mediated by activation of  $\alpha_2$ -adrenoreceptors // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2001. – Vol. 281. – P. G1014–1021.

170. Zhou M., Das P., Simms H. H., Wang P. Gut-derived norepinephrine plays an important role in up-regulating IL-1 $\beta$  and IL-10 // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2005. – Vol. 1740 (3). – P. 446–452.

171. Zhang F., Wu R., Qiang X. et al. Antagonism of  $\alpha_2$ A-adrenoreceptor: P. a novel approach to inhibit inflammatory responses in sepsis // *J. Mol. Med.* – 2010. – Vol. 88 (3). – P. 289–296.

172. Rough J., Engdahl R., Opperman K. et al.  $\beta_2$ Adrenoreceptor blockade attenuates the hyperinflammatory response induced by traumatic injury // *Surgery.* – 2009. – Vol. 145 (2). – P. 235–242.

173. Eisenhofer G., Aneman A., Hooper D. et al. Production and metabolism of dopamine and norepinephrine in mesenteric organs and liver of swine // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 1995. – Vol. 268 (4). – P. G641–G649.

174. Eisenhofer G., Aneman A., Hooper D. et al. Mesenteric organ production, hepatic metabolism, and renal elimination of norepinephrine and its metabolites in humans // *J. Neurochem.* – 1996. – Vol. 66 (4). – P. 1565–1573.

175. Lyte M., Bailey M. T. Neuroendocrine-bacterial interactions in a neurotoxin-induced model of trauma // *J. Surg. Res.* – 1997. – Vol. 70 (2). – P. 195–201.

176. Alverdy J., Holbrook C., Rocha F. et al. Gut-derived sepsis occurs when the right pathogen with right virulence genes meets the right host: evidence for *In vivo* virulence expression in *Pseudomonas aeruginosa* // *Am. Surg.* – 2000. – Vol. 232 (4). – P. 480–489.

177. Ahlman H., Bhargava H. N., Dahlstrom A. et al. On the presence of serotonin in the gut lumen and possible release mechanism // *Acta Physiol. Scand.* – 1981. – Vol. 112 (3). – P. 263–269.

178. Lyte M., Ernst S. Catecholamine induced growth of gram negative bacteria // *Life Sci.* – 1992. – Vol. 50 (3). – P. 203–212.

179. Belay T., Sonnenfeld G. Differential effects of catecholamines on *In vivo* growth of the pathogenic bacteria // *Life Sci.* – 2002. – Vol. 71 (4). – P. 447–456.

180. Freestone P. P., Walton N. J., Haigh R. D., Lyte M. Influence of dietary catechols on the growth of enteropathogenic bacteria // *Int. J. Food Microbiol.* – 2007. – Vol. 119 (3). – P. 159–169.

181. Dowd S. E. Escherichia coli O157:H7 gene expression in the presence of catecholamine norepinephrine FEMS // *Microbiol. Lett.* – 2007. – Vol. 273 (2). – P. 214–225.

182. Lyte M., Arulanandam B., Nguyen K. et al. Norepinephrine induced growth and expression of virulence associated factors in enterotoxigenic and enterohemorrhagic strains of Escherichia coli // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 1997. – Vol. 412. – P. 331–339.

183. Freestone P., Sandrini S., Haigh R., Lyte M. Microbial endocrinology: how stress influences susceptibility to infection // *Trends Microbiol.* – 2008. – Vol. 16 (2). – P. 55–64.

184. Lyte M., Frank C. D., Green B. T. Production of an autoinducer of growth by norepinephrine cultured Escherichia coli O157:H7 // *FEMS Microbiol Lett.* – 1996. – Vol. 139 (2–3). – P. 155–159.

185. *Freestone P. P., Haigh R. D., Williams P. H., Lyte M.* Stimulation of bacterial growth by heat-stable, norepinephrine-induced autoinducers // *FEMS Microbiol. Lett.* – 1999. – Vol. 127 (1). – P. 53–60.
186. *Анохин П. К.* Опережающее отражение действительности в психологии // *Вопр. философии.* – 1962. – Vol. 7. – P. 97–111.
187. *Анохин П. К.* Теория отражения и современная наука о мозге. – М.: Знание, 1970.
188. *Lizko N. N.* Stress and intestinal microflora // *Nahrung.* – 1987. – Vol. 31 (5–6). – P. 443–447.
189. *Holdeman L. V., Good I. J., Moore W. E.* Human fecal flora: variation in bacterial composition within individuals and a possible effect of emotional stress // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1976. – Vol. 31 (3). – P. 359–375.
190. *Jemmot J. B., McClelland D. C.* Secretory IgA as a measure of resistance to infectious disease: comments on Stone, Cox, Vladimarsdottir, and Neale // *Behav. Med.* – 1989. – Vol. 12 (2). – P. 63–71.
191. *Lizko N. N.* Problems of microbial ecology in man space mission // *Acta Astronaut.* – 1991. – Vol. 23. – P. 163–169.
192. *Drummond P. D., Hewson-Bower B.* Increased psychosocial stress and decreased mucosal immunity in children with recurrent upper respiratory tract infections // *J. Psychosom. Res.* – 1997. – Vol. 43 (3). – P. 271–278.
193. *Beumer C., Wulferink M., Raaben W. et al.* Calf intestinal alkaline phosphatase, a novel therapeutic drug for lipopolysaccharide (LPS)-mediated diseases, attenuates LPS toxicity in mice and piglets // *J. Pharmacol.* – 2003. – Vol. 307 (2). – P. 737–744.
194. *Vaishnava S., Hooper L. V.* Alkaline phosphatase: keeping the peace at the gut epithelial surface // *Cell Host Microbe.* – 2007. – Vol. 2 (6). – P. 365–367.
195. *Goldberg R. F., Austen W. G. Jr., Zhang X.* Intestinal alkaline phosphatase is a gut mucosal defense factor maintained by enteral nutrition // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2008. – Vol. 105 (9). – P. 3551–3556.
196. *Lalles J.-P.* Intestinal alkaline phosphatase: multiple biological roles in maintenance of intestinal homeostasis and modulation by diet // *Nutr. Rev.* – 2010. – Vol. 86 (6). – P. 323–332.
197. *Prabhu R., Anup R., Balasubramanian K. A.* Surgical stress induces phospholipids degradation in the intestinal brush border membrane // *J. Surg. Res.* – 2000. – Vol. 94 (2). – P. 178–184.
198. *Prabhu R., Thomas S., Balasubramanian K. A.* Surgical stress-induced alterations in retinoid metabolism in the small intestine: role of oxygen free radicals // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2005. – Vol. 434 (2). – P. 299–305.
199. *Malo M. S., Biswas S., Abedrap M. A. et al.* The pro-inflammatory cytokines, IL-1 beta and TNF-alpha, inhibit intestinal alkaline phosphatase gene expression // *DNA Cell. Biol.* – 2006. – Vol. 25 (12). – P. 684–695.
200. *Lackeyram D., Yang C., Archbold T. et al.* Early weaning reduces small intestinal alkaline phosphatase expression in pigs // *J. Nutr.* – 2010. – Vol. 140 (3). – P. 461–468.
201. *Watson W. C., Murray E. S., Gardner M. D.* Regulation of intestinal alkaline phosphatase levels in the rat // *J. Clin. Path.* – 1967. – Vol. 20 (2). – P. 185–189.
202. *Poelstra K., Bakker W. W., Klok P. A. et al.* A physiologic function for alkaline phosphatase: endotoxin detoxification // *Lab. Invest.* – 1997. – Vol. 76 (3). – P. 319–327.

203. *Fukushima K., Sasaki I., Takahashi K.* et al. Lipopolysaccharide exhibit synergistic enhancement of butyrate-induced and retinoic acid-mediated alkaline phosphatase activity on small intestinal epithelial cell line, IEC-6 // *Digestion*. – 1998. – Vol. 59 (6). – P. 683–688.
204. *Malo M. S., Zhang W., Alkhoury F.* et al. Thyroid hormone positively regulates the enterocyte differentiation marker intestinal alkaline phosphatase gene via an atypical response element // *Mol. Endocrinol.* – 2004. – Vol. 18 (8). – P. 1941–1962.
205. *Cani P. D., Amor J., Iglesias M. A.* et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance // *Diabetes*. – 2007. – Vol. 56 (7). – P. 1761–1772.
206. *Siebler J., Galle P. R., Weber M. M.* The gut-liver-axis: endotoxemia, inflammation, insulin resistance and NASH // *J. Hepatol.* – 2008. – Vol. 48 (6). – P. 1032–1034.
207. *Cani P. D., Bibiloni R., Knauf C.* et al. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice // *Diabetes*. – 2008. – Vol. 57 (6). – P. 1470–1481.
208. *Sun L., Yu Z., Ye X.* et al. A marker of endotoxemia is associated with obesity and related metabolic disorders in apparently healthy // *Chinese Diabetes Care*. – 2010. – Vol. 33 (9). – P. 1925–1932.
209. *Lin S. Y., Wang Y. Y., Liu P. H.* et al. Lower serum free thyroxine levels are associated with metabolic syndrome in a Chinese population // *Metabolism*. – 2005. – Vol. 54 (11). – P. 1524–1528.
210. *Roos A., Bakker S. J. L., Links T. P.* et al. Thyroid function is associated with components of the metabolic syndrome in euthyroid subjects // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2007. – Vol. 92 (2). – P. 491–496.
211. *De Pergola G., Giorgino F., Benigno R.* et al. Independent influence of insulin, catecholamines, and thyroid hormones on metabolic syndrome // *Obesity*. – 2008. – Vol. 16 (11). – P. 2405–2411.
212. *Park H. T., Cho G. J., Ahn K. H.* et al. Thyroid stimulating hormone is associated with metabolic syndrome in euthyroid postmenopausal women // *Maturitas*. – 2009. – Vol. 62 (3). – P. 301–305.
213. *Kumar H. K., Yadav R. K., Prajapati J.* et al. Association between thyroid hormones, insulin resistance, and metabolic syndrome // *Saudi Med. J.* – 2009. – Vol. 30 (7). – P. 179–183.
214. *Richmand D. A., Molitch M. E., O'Donnell T. F.* Altered thyroid hormone levels in bacterial sepsis: the role of nutritional adequacy // *Metabolism*. – 1980. – Vol. 29 (10). – P. 936–942.
215. *Chen K. T., Malo M. S., Moos A. K.* et al. Identification of specific targets for the gut mucosal defense factor intestinal alkaline phosphatase // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2010. – Vol. 299 (2). – P. G467–G475.
216. *Cetin S., Ford H. R., Sysko L.* et al. Endotoxin inhibits intestinal epithelial restitution through activation of Rh0-GTPase and increased focal adhesion // *J. Biol. Chem.* – 2004. – Vol. 279 (23). – P. 24592–24600.
217. *Qureshi F. G., Leaphart C. I., Cetin S.* et al. Increased expression and function of integrins in enterocytes by endotoxin impairs epithelial restitution // *Gastroenterology*. – 2005. – Vol. 128 (4). – P. 1012–1022.
218. *Feng J., Besner G. F.* Heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor promotes enterocyte migration and proliferation in neonatal rats with necrotizing enterocolitis // *J. Pediatr. Surg.* – 2007. – Vol. 42 (1). – P. 214–220.

219. *Gribar S. C., Anand R. J., Sodhi C. P., Hackam D. J.* The role of epithelial Toll-like receptor signaling in the pathogenesis of intestinal inflammation // *J. Leukoc. Biol.* – 2008. – Vol. 83 (3). – P. 493–498.
220. *Leaphart C. L., Cavallo J., Gribar S. C. et al.* A critical role for TLR4 in the pathogenesis of necrotizing enterocolitis by modulating intestinal injury and repair // *J. Immunol.* – 2007. – Vol. 179 (7). – P. 4808–4820.
221. *Harter L., Mica L., Stocker R. et al.* Increased expression of Toll-like receptor-2 and -4 on leukocytes from patients with sepsis // *Shock.* – 2004. – Vol. 22 (5). – P. 403–409.
222. *Brandl K., Gluck T., Huber C. et al.* TLR-4 surface display on human monocytes is increased in septic patients // *Eur. J. Med. Res.* – 2005. – Vol. 10 (8). – P. 319–324.
223. *Wittebole X., Coyle S. M., Kumar A. et al.* Expression of tumor necrosis factor receptor and Toll-like receptor 2 and 4 on peripheral blood leukocytes of human volunteers after endotoxin challenge: a comparison of flow cytometric light scatter and immunofluorescence gating // *Clin. Exp. Immunol.* – 2005. – Vol. 141 (1). – P. 99–106.
224. *Wittebole X., Castanares-Zapatero D., Laterre P. F.* Toll-like receptor 4 modulation as strategy to treat sepsis // *Mediators Inflamm.* – 2010;2010:569–396.
225. *Christ W. J., Asano O., Robidoux A. L. C. et al.* E5531, a pure endotoxin antagonist of high potency // *Science.* – 1995. – Vol. 268 (5207). – P. 80–83.
226. *Bunnell E., Lynn M., Habet K. et al.* A lipid A analog, e5531, blocks the endotoxin response in human volunteers with experimental endotoxemia // *Crit. Care Med.* – 2000. – Vol. 28 (8). – P. 2713–2720.
227. *Czeslick E., Struppert A., Simm A., Sablotzki A.* E 5564 (eritoran) inhibits lipopolysaccharide-induced cytokine production in human blood monocytes // *Infl. Res.* – 2006. – Vol. 55 (11). – P. 511–515.
228. *Lynn M., Rossignol D. P., Wheeler J. L. et al.* Blocking of responses to endotoxin by E5564 in healthy volunteers with experimental endotoxemia // *J. Infect. Dis.* – 2003. – Vol. 187 (4). – P. 631–639.
229. *Tidswell M., Tillis W., Larosa S. P. et al.* Phase 2 trial of eritoran tetrasodium (E 5564), a toll-like receptor 4 antagonist in patients with severe sepsis // *Crit. Care Med.* – 2010. – Vol. 38 (1). – P. 271–280.
230. *Frantz S., Kobzik L., Kim Y.-D. et al.* Toll4 (TLR4) expression in cardiac myocytes in normal and failing myocardium // *J. Clin. Invest.* – 1999. – Vol. 104 (3). – P. 271–280.
231. *Baumgarten G., Kneuferrmann P., Schuhmacher G. et al.* Toll-like receptor 4, nitric oxide, and myocardial depression in endotoxemia // *Shock.* – 2006. – Vol. 25 (1). – P. 43–49.
232. *Ehrentraut S., Frede S., Stapel H. et al.* Anagonism of lipopolysaccharide-induced blood pressure attenuation and vascular contractility // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2007. – Vol. 27 (10). – P. 2170–2176.
233. *Shimamoto A., Chong A. J., Yada M. et al.* Inhibition of toll-like receptor 4 with eritoran attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury // *Circulation.* – 2006. – Vol. 114 (1). – P. 1270–1274.
234. *Takashima K., Matsunaga N., Yoshimatsu M. et al.* Analysis of binding site for the novel small-molecule TLR4 signal transduction inhibitor TAK-242 and its therapeutic effect on mouse sepsis model // *Brit. J. Pharmacol.* – 2009. – Vol. 157 (7). – P. 1250–1262.

235. *Kitchens R. L., Wang P.-Y., Munford R. S.* Bacterial lipopolysaccharide can enter monocytes via two CD14-dependent pathways // *J. Immun.* – 1998. – Vol. 161 (10). – P. 5534–5545.
236. *Hong Z., Jiang Z., Liangxi W.* et al. Chloroquine protects mice from challenge with CpG ODN and LPS by decreasing proinflammatory cytokine release // *Int. Immunopharmacology.* – 2004. – Vol. 4 (2). – P. 223–234.
237. *Yasuda H., Leelahavanichkul A., Tsunoda S.* et al. Chloroquine and inhibition of Toll-like receptor 9 protect from sepsis-induced acute kidney injury // *Am. J. Physiol.* – 2008. – Vol. 294 (5). – P. F1058–F1058.
238. *Yu M., Shao D., Yang J.* et al. Ketamine suppresses intestinal TLR4 expression and NF- $\kappa$ B activity in lipopolysaccharide-treated rats // *Croatian Med. J.* – 2006. – Vol. 47 (6). – P. 825–831.
239. *Yu M., Shao D., Feng X.* et al. Effects of ketamine on pulmonary TLR4 expression and NF- $\kappa$ B activation during endotoxemia in rats // *Methods Find. Experiment. Clin. Pharmacol.* – 2007. – Vol. 29 (6). – P. 395–399.
240. *Chen T.-L., Chang C.-C., Lin Y.-L.* et al. Signal-transducing mechanisms of ketamine-caused inhibition of interleukin-1 $\beta$  gene expression in lipopolysaccharide-stimulated murine macrophage-like Raw 264.7 cells // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2009. – Vol. 240 (1). – P. 15–25.
241. *Horiuchi H., Nagata I., Komoriya K.* Protective effect of vitamin D<sub>3</sub> analogues on endotoxin shock in mice // *Agents Actions.* – 1991. – Vol. 33 (3–4). – P. 343–348.
242. *Moller S., Laigaard F., Olgaard K., Hemmingsen C.* Effect of 1,25-dihydroxy-vitamin D<sub>3</sub> in experimental sepsis // *Inter. J. Med. Sci.* – 2007. – Vol. 4 (4). – P. 190–195.
243. *Liu P. T., Stenger S., Li H.* et al. Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response // *Science.* – 2006. – Vol. 311 (5768). – P. 1770–1773.
244. *Sorensen O. E., Follin P., Johnsen A. H.* et al. Human cathelicidin, hCAP-18, is processed to antimicrobial peptide LL-37 by extracellular cleavage with proteinase 3 // *Blood.* – 2001. – Vol. 97 (12). – P. 3951–3959.
245. *Zanetti M.* Cathelicidins, multifunctional peptides of the innate immunity // *J. Leuk. Biol.* – 2004. – Vol. 75 (1). – P. 39–48.
246. *Sadeghi K., Wessner B., Laggner U.* et al. Vitamin D<sub>3</sub> down-regulates monocyte TLR expression and triggers hyporesponsiveness to pathogen-associated molecular patterns // *Eur. J. Immunol.* – 2006. – Vol. 36 (2). – P. 361–370.
247. *Equils O., Naiki Y., Shapiro A. M.* et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> inhibits lipopolysaccharide-induced immune activation in human endothelial cells // *Clin. Exp. Immun.* – 2006. – Vol. 143 (1). – P. 5864.
248. *Lagishetty V., Misharin A. V., Liu N. Q.* et al. Vitamin D deficiency in mice impairs colonic antibacterial activity and predisposes to colitis // *Endocrinol.* – 2010. – Vol. 151 (6). – P. 2423–2432.
249. *Jeng L., Yamshchikov A. V., Judd S. E.* et al. Alterations in vitamin D status and anti-microbial peptide levels in patients in the intensive care unit with sepsis // *J. Trans. Med.* – 2009. – Vol. 7. – P. 28.
250. *Bao B.-Y., Ting H.-J., Hsu J.-W., Lee Y.-F.* Protective role of 1 $\alpha$ , 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> against oxidative stress in nonmalignant human prostate epithelial cells // *Int. J. Cancer.* – 2008. – Vol. 122 (12). – P. 2699–2706.
251. *Lin A. M. Y., Chen K. B., Chao P. L.* Antioxidative effect of vitamin D<sub>3</sub> on zinc-induced oxidative stress in CNS // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2005. – Vol. 1053. – P. 319–329.

252. Reichrath J. Vitamin D and the skin: an ancient friend, revisited // Exp. Dermatol. — 2007;16 (7). — P. 618–625.
253. Ahmed M. S., Shoker A. Vitamin D metabolites; protective versus toxic properties: molecular and cellular perspectives // Nephrol. Rev. — 2010. — Vol. 2:e5.
254. Shor R., Halabe A., Rishver S. et al. Severe hypophosphatemia in sepsis as a mortality predictor // Ann. Clin. Lab. Sci. — 2006. — Vol. 36 (1). — P. 67–72.
255. Datta H. K., Malik M., Neely R. D. Hepatic surgery-related hypophosphatemia // Clin. Chim. Acta. — 2007. — Vol. 380 (1–2). — P. 13–23.
256. Long J., Zaborina O., Holbrook C. et al. Depletion the phosphate following surgical injury activates the virulence of *P. aeruginosa* causing lethal gut-derived sepsis // Surg. — 2008. — Vol. 144 (2). — P. 189–197.
257. Drandhuber B. J., Allerud V. S., Falbel T. G., McKay D. B. Mapping the enzymatic active site of *Pseudomonas aeruginosa* exotoxin A // Proteins. — 2002. — Vol. 70 (12). — P. 7136–7139.
258. Беляков Н. А., Соломенников А. В., Журавлева И. Н., Соломенникова Л. О. Энтеросорбция — механизм лечебного действия // Эфферентная терапия. — 1997. — Vol. 3 (2). — P. 20–26.
259. Боярская А. М., Осадчая О. И., Жернов А. А., Коваленко О. Н. Применение энтеросорбента энтеросгель в комплексном лечении дисбиоза кишечника у детей с ожоговой болезнью // Мед. неотложн. сост. — 2006. — Vol. 1 (2). — P. 50–52.
260. Бондарев Е. В., Штрыголь С. Ю., Дырявый С. Б. Применение энтеросорбентов в медицинской практике // Провизор. — 2008. — Vol. 13–14. — [www.provisor.com/ua](http://www.provisor.com/ua)
261. Николаев В., Бардахивская К. Энтеросгель — универсальный кремнийорганический сорбент // Ежегодн. аптека. — 2009. — Vol. 50 (721). — P. 13.
262. Барановский А. Ю., Кондрашина Э. А. Дисбактериоз кишечника. — СПб.: Питер, 2008. — 240 с.
263. Von Engelhardt W. Absorption of short-chain fatty acids from the large intestine. Physiological and clinical aspects of short-chain fatty acids metabolism / Eds. Cummings J. H., Rombeau J. L., Sakata T. — Cambridge: Cambridge Univ. Press, 1995. — P. 149–170.
264. Бельмер С. В. Метаболические эффекты пребиотиков: взгляд педиатра // Вопр. дет. диет. — 2005. — Vol. 3 (3). — P. 33–35.
265. Food and Drug Administration. Food labeling: healthy claims; oats and coronary heart disease: proposed rule. — 01.23.1997.
266. Lupton J. R., Turner N. D. Dietary fiber and coronary disease: does the evidence support an association // Curr. Atheroscler. Rep. — 2003. — Vol. 5 (6). — P. 500–505.
267. Yun C.-H., Estrada A., van Kessel A. et al.  $\beta$ - (1 $\rightarrow$ 3,1 $\rightarrow$ 4) oat glucan enhances resistance to *Eimeria vermiciformes* infection in immunosuppressed mice // Int. J. Parasitol. — 1997. — Vol. 27 (3). — P. 329–337.
268. Rice P. J., Adams E. L., Ozment-Scelton T. et al. Oral delivery and gastrointestinal absorption of soluble glucans stimulate increased resistance to infectious challenge // J. Pharm. Exp. Ther. — 2005. — Vol. 314 (3). — P. 1079–1086.
269. Бета-глюкан. <http://www.nazdorovye.ru/glucan.html>
270. Miura N. N., Ohno N., Aketagawa J. et al. Blood clearance of (1 $\rightarrow$ 3)-beta-glucan in MRL lpr/lpr mice FEMS // Immun. Med. Microbiol. — 1996. — Vol. 13 (1). — P. 51–57.
271. Babineau T. J., Hackford A., Kenler A. et al. A phase II multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled study of three dosages of an immunomodulator

(PGG-glucan) in high-risk surgical patients // Arch. Surg. – 1994. – Vol. 129 (11). – P. 1204–1210.

272. *Chihara G.* Recent progress in immunopharmacology and therapeutic effects of polysaccharides // Dev. Biol. Stand. – 1992. – Vol. 77. – P. 191–197.

273. *Tzianabos A. O., Gibson F. C. 3<sup>rd</sup>, Cisneros R. L., Kasper D. L.* Protection against experimental intraabdominal sepsis by two polysaccharide immunomodulators // J. Infect. Dis. – 1998. – Vol. 178 (1). – P. 200–206.

274. *Vetvicka V., Thornton B. P., Ross G. D.* Soluble beta-glucan polysaccharide binding to the lectin site of neutrophil or natural killer cell complement receptor type 3 (CD11b/CD18) generates a primed state of the receptor capable of mediating cytotoxicity of iC3b-opsonized target cells // J. Clin. Invest. – 1996. – Vol. 98 (1). – P. 60–61.

275. *Dongowski G., Huth M., Gebhardt E., Flamme W.* Dietary fiber-rich barley products beneficially affect the intestinal tract of rats // J. Nutr. – 2002. – Vol. 132 (12). – P. 3704–3714.

276. *Sener G., Toklu H., Ercan F., Erkanli G.* Protective affect of beta-glucan against oxidative organ injury in a rat model of sepsis // Int. Immunopharmacol. – 2005. – Vol. 5 (9). – P. 1387–1396.

277. *Senoglu N., Yuzbasioglu M. F., Aral M. et al.* Protective effects of N-acetylcysteine and  $\beta$ -glucan pretreatment on oxidative stress // J. Intensiv. Surg. – 2008. – Vol. 21 (5). – P. 237–243.

278. *Saito R., Ohtomo R., Kuga-Uetake Y. et al.* Direct labeling of polyphosphate at the ultrastructural level in *Saccharomyces cerevisiae* by using the affinity of the polyphosphate binding domain of *Escherichia coli* exopolyphosphatase // Appl. Environ. Microbiol. – 2005. – Vol. 71 (10). – P. 5692–5701.

279. *Tomashevsky A. A., Ryazanova L. P., Kulakovskaya T. V., Kulaev I. S.* Inorganic polyphosphates of different fractions in the mutant yeast *Saccharomyces cerevisiae* with impaired mitochondrial ATP synthesis // Microbiol. – 2010. – Vol. 79 (1). – P. 35–38.

280. *Onderdonk A. B., Cisneros R. L., Hinkson P., Ostroff G.* Anti-infective effect of poly-beta 1-6-glucopyranose glucan in vivo // Infect. Immun. – 1992. – Vol. 60 (4). – P. 1642–1647.

281. *Kernodle D. S., Gates H., Kaiser A. B.* Prophylactic anti-infective activity of poly-[1-6-beta-D-glucopyranosyl-[1-3]-beta-D-glucopyranose glucan in a guinea pig model of staphylococcal wound infection // Antimicrob. Agents Chemother. – 1998. – Vol. 42 (3). – P. 545–549.

282. *Bullen J. J., Rogers H. J., Spading P. B., Ward C. G.* Iron and infection: the heart of the matter // FEMS Immunol. Microbiol. – 2005. – Vol. 43 (3). – P. 325–330.

283. *Litwin C. M., Calderwood S. B.* Role of iron in regulation of virulence genes Clin. Microbiol. Rev. – 1993. – Vol. 6 (2). – P. 137–149.

284. *Kaneko Y., Thoendal M., Olakanmi O. et al.* The transition metal gallium disrupts *Pseudomonas aeruginosa* iron metabolism and has antimicrobial and antibiofilm activity // J. Clin. Invest. – 2007. – Vol. 117 (4). – P. 877–888.

285. *Griffiths E.* Iron in biological systems Iron and infection. Molecular, physiological and clinical aspects / Eds. Bullen J. J., Griffiths E., Wiley J. – Chichester, 1999. – P. 1–26.

286. *Javadi P., Buchman T. G., Stromberg P. E. et al.* High-dose exogenous iron following cecal ligation and puncture increases mortality rate in mice and is associated with an increase in gut epithelial and splenic apoptosis // Crit. Care Med. – 2004. – Vol. 32 (5). – P. 1178–1185.

287. Lagan A. L., Melley D. D., Evans T. W., Quinland G. J. Pathogenesis of the systemic inflammatory syndrome and acute lung injury: role of iron mobilization and decompartmentalization // *Am. J. Lung Cell. Mol. Physiol.* — 2008. — Vol. 294. — P. L161–L174.!
288. Lyte M. Microbial endocrinology and infectious disease in the 21st century // *Trends Microbiol.* — 2004. — Vol. 12 (1). — P. 14–20.
289. Cosentino M., Marino F., Bombelli R. et al. Endogenous catecholamine synthesis, metabolism, storage and uptake in human neutrophils // *Life Sci.* — 1999. — Vol. 64 (12). — P. 975–981.
290. Flierl M. A., Rittirsch D., Nadeau B. A. et al. Phagocyte-derived catecholamines enhance acute inflammatory injury // *Nature.* — 2007. — Vol. 449 (7163). — P. 721–725.
291. Flierl M. A., Rittirsch D., Huber-Lang M. et al. Catecholamines – crafty weapons in the inflammatory arsenal of immune/inflammatory cells or opening Pandora's box? // *Mol. Med.* — 2008. — Vol. 14 (3–4). — P. — 195–204.
292. Sandrini S. M., Shergill R., Woodward J. et al. Elucidation of the mechanism by which catecholamine stress hormones liberate iron from innate immune defense proteins transferring and lactoferrin // *J. Bacteriol.* — 2010. — Vol. — 192 (2). — P. 587–594.
293. Neale C. P., Freestone P. P., Maggs A. F. et al. Catecholamine inotropes as growth factor for *Staphylococcus epidermidis* and other coagulase-negative staphylococci // *FEMS Microbiol. Lett.* — 2001. — Vol. 194 (2). — P. 163–169.
294. Freestone P. P., Haigh R. D., Lyte M. Specificity of catecholamine-induced growth in *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica* and *Yersinia enterocolitica* // *FEMS Microbiol. Lett.* — 2007. — Vol. 269 (2). — P. 221–228.
295. Ratledge C., Dover L. G. Iron metabolism in pathogenic bacteria // *Annu. Rev. Microbiol.* — 2000. — Vol. 54. — P. 881–941.
296. Krewulak K. D., Vogel H. J. Structural biology of bacterial iron uptake // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2008. — Vol. 1778 (9). — P. 1781–1804.
297. Forsbery C. M., Bullen J. J. The effect of passage and iron on the virulence of *Pseudomonas aeruginosa* // *J. Clin. Pathol.* — 1972. — Vol. 25. — P. 65–68.
298. Steven L. Egg white protein // *Comp. Biochem. Physiol. B.* — 1991. — Vol. 100 (1). — P. 1–9.
299. Valenti P., Antonini G., von Hunolsten C. et al. Studies of the antimicrobial activity of ovotransferrin // *Int. J. Tissue React.* — 1983. — Vol. 5 (1). — P. 97–105.
300. Ahn D. U. Influence of zinc, sodium bicarbonate, and citric on the antimicrobial activity of ovotransferrin against *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in model system and ham // *Poult. Sci.* — 2008. — Vol. 87. — P. 2660–2670.
301. Abola J. E., Wood M. C., Chwen A. et al. The biochemistry and physiology of iron eds. P. Saltman, J. Hegenauer. — Amsterdam: Elsevier, 1982. — P. 27–34.
302. Ibrahim H. R. Insights into the structure-function relationship of ovalbumin, ovotransferrin and lysozyme Yamamoto T., Juneja I. R., Hatta H., Kim M. Eds. *Hen eggs: their basic and applied science.* — Boca Raton: CRC Press., 1997. — P. 37–56.
303. Corda R., Biddau P., Corrias A., Puxeddu E. Conalbumin in the threatment of acute enteritis in the infant *Int. J. Tissue React.* — 1983. — Vol. 5 (1). — P. 117–123.
304. Машковский М. Д. Лекарственные средства. — М.: Новая Волна, 2005. — 1200 с.
305. Ефремов В. В., Спиричев В. Б., Симакова Р. А. Витамины Большая медицинская энциклопедия. — М., 1976. — Т. 4. — С. 270–275.
306. Патент РФ 2339389.



307. Патент РФ 2132681.
308. Патент РФ 2116788.
309. Cooper R. G., Magwera T. Chloroquine: novel uses and manifestations // Indian. J. Med. Res. — 2008. — Vol. 127 (4). — P. 305–316.
310. Centers for disease control and prevention. Treatment for malaria, guidelines for clinicians 2006. — Vol. [http://www.cdc.gov/malaria/diagnosis\\_treatment/clinicians2.htm](http://www.cdc.gov/malaria/diagnosis_treatment/clinicians2.htm).
311. Meinao I. M., Sato E. I., Andrade L. E. C. et al. Controlled trial with chloroquine diphosphate in systemic lupus erythematosus // Lupus. — 1996. — Vol. 5 (3). — P. 237–241.
312. Augustijns P., Geusens P., Verbeke N. Chloroquine levels in blood during chronic treatment of patients with rheumatoid arthritis // Eur. J. Clin. Pharmacol. — 1992. — Vol. 42 (4). — P. 429–433.
313. Augustijns P., Verbeke N. Stereoselective pharmacokinetic properties of chloroquine and de-ethyl-chloroquine in humans // Clin. Pharmacokinetic. — 1993. — Vol. 24 (3). — P. 259–269.
314. Addi A. Y., Gustafsson L. L., Ericsson O., Hellgren U. Handbook of drugs for tropical parasitic infections. — 2<sup>nd</sup> ed. — London: Taylor and Francis Ltd, 1995. — 181 p.
315. Solomon V. R., Lee H. Chloroquine and its analogs: a new promise of an old drug for effective and safe cancer therapies // Eur. J. Pharmacol. — 2009. — Vol. 625 (1–3). — P. 220–233.
316. Gonzalez M. A. Adding chloroquine to conventional treatment for glioblastoma multiforme // Ann. Intern. Med. — 2006. — Vol. 144 (5). — P. 337–343.
317. WO/2007/059372. Use of chloroquine to treat metabolic syndrome.
318. Karres I., Kremer J. P., Diet I. et al. Chloroquine inhibits proinflammatory cytokine release into human whole blood // Am. J. Physiol. — 1998. — Vol. 274 (4). — P. R1058–R1064.
319. Yasuda H., Leelanhavanichkul A., Tsunoda S. et al. Chloroquine and inhibition of Toll-like receptor 9, protect from sepsis-induced acute kidney injury // Am. J. Physiol. Renal Physiol. — 2008. — Vol. 294 (5). — P. F1050–F1058.
320. Ertel W., Morrison M. H., Ayala A., Chaudry I. H. Chloroquine attenuates hemorrhagic shock-induced immunosuppression and decreases susceptibility to sepsis // Arch. Surg. — 1992. — Vol. 127 (1). — P. 75–76.
321. Hong Z., Jiang Z., Liangxi W. et al. Chloroquine protects mice from challenge with CpG ODN and LPS by decreasing proinflammatory cytokine release // Int. Immunopharmacol. — 2004. — Vol. 4 (2). — P. 223–234.
322. Bondeson J., Sundler R. Antimalarial drugs inhibit phospholipase A2 activation and induction of interleukin 1 beta and tumor necrosis factor alpha in macrophages: implications for their mode of action in rheumatoid arthritis // Gen. Pharmacol. — 1998. — Vol. 30 (3). — P. 357–366.
323. Filippov A., Skatova G., Porotikov V. et al. Ca<sup>2+</sup>-antagonistic properties of phospholipase A2 inhibitors, mepacrine and chloroquine // Gen. Physiol. Biophys. — 1989. — Vol. 8 (2). — P. 113–118.
324. Loor F., Tiberghien F., Wenandy T. et al. Cyclosporins: structure-activity relationship for the inhibition of the human FPR1 formyl peptide receptor // J. Med. Chem. — 2002. — Vol. 45 (21). — P. 4613–4628.
325. Yan P., Nanamori M., Sun M. et al. The immunosuppressant cyclosporin A antagonizes human formyl peptide receptor through inhibition of cognate ligand binding // J. Immunol. — 2006. — Vol. 177 (10). — P. 7050–7058.

326. Huang H., Farley J. PP1 inhibitors depolarize Hermissenda Photoreceptors and reduce K<sup>+</sup> currents // *J. Neurophysiol.* — 2001. — Vol. 86 (3). — P. 1297–1311.
327. Smaili S. S., Stellato K. A., Burnett P. et al. Cyclosporin A inhibits inositol 1,4,5-trisphosphate-dependent Ca<sup>2+</sup> signals by enhancing Ca<sup>2+</sup> uptake into the endoplasmic reticulum and mitochondria // *Biol. Chem.* — 2001. — Vol. 276 (26). — P. 23329–23340.
328. Snyder S. H., Sabatini D. M., Lai M. M. et al. Neural action of immunophilin ligands // *Trends Pharmacol. Sci.* — 1998. — Vol. 19 (1). — P. 21–26.
329. Walker G., Kunz D., Pignat W. et al. Suppression by cyclosporin A of interleukin 1 beta-induced expression of group II phospholipase A2 in rat mesangial cells // *Br. J. Pharmacol.* — 1997. — Vol. 121 (4). — P. 787–793.
330. Gabryel B., Chalimoniuk M., Stolecka A. et al. Inhibition of arachidonic acid release by cytosolic phospholipase A2 is involved in the antiapoptotic effect of FK506 and cyclosporine A on astrocytes exposed to stimulated ischemia *in vitro* // *J. Pharmacol. Sci.* — 2006. — Vol. 102 (1). — P. 77–87.
331. Fan T.-P. D., Lewis G. P. Mechanism of cyclosporin A-induced inhibition of prostacyclinsynthesis by macrophages // *Prostaglandins.* — 1985. — Vol. 30 (5). — P. 735–747.
332. Dalkara T., Yoshida T., Irikura K., Moskowitz M. A. Dual role of nitric oxide in focal cerebral ischemia // *Neuropharmacol.* — 1994. — Vol. 33 (11). — P. 1447–1452.
333. Dawson V. L., Kizushi V. M., Huang P. L. et al. Resistance to neurotoxicity in cortical cultures from neuronal nitric oxide synthase-deficient mice // *J. Neurosci.* — 1996. — Vol. 16 (8). — P. 2479–2487.
334. Diaz-Ruiz A., Vergana P., Perez-Severiano F. et al. Cyclosporin-A inhibits constitutive nitric oxide synthase activity and neuronal and endothelial nitric oxide synthase expression after spinal injury in rats // *Neurochem.* — 2005. — Vol. 30 (2). — P. 245–251.
335. Diaz-Ruiz A., Vergana P., Perez-Severiano F. et al. Cyclosporin-A inhibits inducible nitric oxide synthase activity and expression after spinal cord injury in rats // *Neurosci. Lett.* — 2004. — Vol. 357 (1). — P. 49–52.
336. Crompton M., Ellinger H., Costi A. Inhibition by cyclosporin A of a Ca<sup>2+</sup>-dependent pore in heart mitochondria activated by inorganic phosphate and oxidative stress // *Biochem L.* — 1988. — Vol. 255 (1). — P. 357–360.
337. Bernardi P., Broekemeier K. M., Pfeiffer D. R. Recent progress on regulation of the mitochondrial permeability transition pore: a cyclosporin-sensitive pore in the inner mitochondrial membrane // *J. Bioenerg. Biomembr.* — 1994. — Vol. 26 (5). — P. 509–517.
338. Reddy P. V. B., Pao K. V. R., Norenberg M. D. Inhibitors of the mitochondrial permeability transition reduce ammonia-induced cell swelling in cultured astrocytes // *J. Neurosci. Res.* — 2009. — Vol. 87 (12). — P. 2677–2685.
339. Hatton J., Rosbolt B., Empey P. et al. Dosing and safety of cyclosporine in patients with severe brain injury // *J. Neurosurg.* — 2008. — Vol. 109 (4). — P. 699–707.
340. Kunsch C., Medford R. M. Oxidative stress as a regulator of gene expression in the vasculature // *Circ. Res.* — 1999. — Vol. 85 (8). — P. 753–766.
341. Hsu H. Y., Wen M. N. Lipopolysaccharide-mediated reactive oxygen species and signaltransduction in the regulation of interleukin-1 gene expression // *J. Biol. Chem.* — 2002. — Vol. 277 (25). — P. 22131–22139.
342. Ali M. H., Schlidt S. A., Chandel N. S. et al. Endothelial permeability and IL-6 production during hypoxia: role of ROS in signal transduction // *Am. J. Physiol.* — 1999. — Vol. 277 (5). — P. L1057–L1065.

343. De Froge L. E., Preston A. M., Takeuchi E. et al. Regulation of interleukin 8 gene expression by oxidant stress // *J. Biol. Chem.* — 1993. — Vol. 268 (34). — P. 25568–25576.

344. Kawaguchi Y., Tnaka H., Okada T. et al. The effects of ultraviolet A and reactive oxygen species on the mRNA expression of 72-kDa type IV collagenase and its tissue inhibitor in cultured human dermal fibroblasts // *Arch. Dermatol. Res.* — 1996. — Vol. 288 (1). — P. 39–44.

345. Brenneisen P., Briviba K., Wlaschek M. et al. Hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) increases the steady-state mRNA levels of collagenase/MMP-1 in human dermal fibroblasts // *Free Radic. Biol. Med.* — 1997. — Vol. 22 (3). — P. 515–524.

346. Morita-Fujimura Y., Fujimura M., Gasche Y. et al. Overexpression of copper and zinc superoxide dismutase in transgenic mice prevents the induction and activation of matrix metalloproteinases after cold injury-induced brain trauma // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* — 2000. — Vol. 20 (1). — P. 130–138.

347. Schreck R., Alberman K., Baeuerle P. A. Nuclear factor kappa B: an oxidative stress-responsive transcription factor of eukaryotic cells // *Free Radic. Res. Commun.* — 1992. — Vol. 14 (4). — P. 221–237.

348. Schulze-Osthoff K., Los M., Baeuerle P. A. Redox signaling by transcription factor NF- kappa B and AP-1 in lymphocytes // *Biochem. Pharmacol.* — 1995. — Vol. 50 (6). — P. 735–741.

349. Gorlach A., Berchner-Pfannschmidt U., Wortzlaw C. et al. Reactive oxygen species modulate HIF-1 mediated PAI-1 expression: involvement of the GTPase Rac1 // *Thromb. Haemost.* — 2003. — Vol. 89 (5). — P. 926–935.

350. Bedogni B., Pani G., Colavitti R. et al. Redox regulation of cAMP-responsive element-binding protein and induction of manganous superoxide dismutase in nerve growth factor-dependent cell survival // *J. Biol. Chem.* — 2003. — Vol. 278 (19). — P. 16510–16519.

351. Landino L. M., Crews B. C., Timmons M. D. et al. Peroxynitrite, the coupling product of nitric oxide and superoxide, activates prostaglandin biosynthesis // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1996. — Vol. 93 (26). — P. 15069–15074.

352. Go Y. M., Patel R. P., Maland M. C. et al. Evidence for peroxynitrite as a signaling molecule in flow-dependent activation of c-Jun N-terminal kinase // *Am. J. Physiol.* — 1999. — Vol. 277 (4). — P. H1647–H1653.

353. Marnett L. J., Wright T. L., Crews B. C. et al. Regulation of prostaglandin biosynthesis by nitric oxide is revealed by targeted deletion of inducible nitric-oxide synthase // *J. Biol. Chem.* — 2000. — Vol. 275 (18). — P. 13427–13430.

354. Kang K. W., Choi S. H., Kim S. G. Peroxynitrite activates NF-E2-related factor 2/ antioxidant response element through the pathway of phosphatidylinositol 3-kinase: the role of nitric oxide synthase in rat glutathione S-transferase A2 induction // *Nitric Oxide.* — 2002. — Vol. 7 (4). — P. 244–253.

355. Platt D. H., Bartoli M., El-Remessy A. B. et al. Peroxynitrite increases VEGF expression in vascular endothelial cells via STAT3 // *Free Radic. Biol. Med.* — 2005. — Vol. 39 (10). — P. 1353–1361.

356. Плужников Н. Н., Гайдар Б. В., Ченур С. В. Редокс-регуляция: Р. фундаментальные и прикладные проблемы // *Актуальные проблемы и перспективы развития военной медицины: Научн. тр. НИИЦ (МБЗ) ГНИИИ ВМ МО РФ.* — Т. 4. — СПб., 2003. — С. 139–173.

357. *Saiton M., Nishitoh H., Fujii M.* et al. Mammalian thioredoxin is a direct inhibitor of apoptosis signal-regulating kinase (ASK)1 // *EMBO J.* – 1998. – Vol. 17 (9). – P. 2596–2606.
358. *Matsuzawa A., Saegusa K., Noguchi T.* et al. ROS-dependent activation of the TRAF6–ASK1–p38 pathway is selectively required for TLR4–mediated innate immunity // *Nat. Immunol.* – 2005. – Vol. 6 (6). – P. 587–592.
359. Бакулина Л. С. Фармакологическая коррекция проявлений оксидативно-го стресса при гнойно-воспалительных заболеваниях среднего уха (клинико-экспериментальное исследование): Дис. ... д-ра мед. наук. – СПб., 2002. – 259 с.
360. *Giambellica M. S., Gende O. A.* Hydrogen peroxide activates calcium influx in human neutrophils // *Mol. Cell. Biochem.* – 2008. – Vol. 399 (1–2). – P. 151–156.
361. *Macarthur H., Westfall T. C., Riley D. P.* et al. Inactivation of catecholamines by superoxide gives new insights on the pathogenesis of septic shock // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2000. – Vol. 97 (17). – P. 9753–9758.
362. Плужников Н. Н., Чиж С. И., Юзвинкевич Л. С. и др. Оксидативный стресс. Фундаментальные и прикладные проблемы // *Актуальные проблемы и перспективы развития военной медицины: Научн.тр. НИИЦ (МБЗ) ГНИИИ ВМ МО РФ.* – Т. 2. – СПб., 2000. – С. 193–223.
363. Патент РФ 2281092.
364. Патент РФ 2167638.
365. Плужников Н. Н., Бакулина Л. С., Лезеза В. И. и др. Некоторые аспекты антирадикальной защиты биомембран // *Актуальные проблемы и перспективы развития военной медицины: Научн.тр. НИИЦ (МБЗ) ГНИИИ ВМ МО РФ.* – Т. 4. – СПб., 2003. – С. 123–139.
366. *Tesoriere L., Bongiorno A., Pintaudi A. M.* et al. Synergistic interactions between vitamin A and vitamin E against lipid peroxidation in phosphatidylcholine liposomes // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1996. – Vol. 326 (1). – P. 57–63.
367. *El Attar T. M., Lin H. S.* Effect of retinoids and carotenoids on prostaglandins formation by oral squamous carcinoma cells // *Prostagl. Leukot. Essent. Fatty Acids.* – 1991. – Vol. 43 (3). – P. 175–178.
368. *Redlich C. A., Rockwell S., Chung J. S.* et al. Vitamin A inhibits radiation-induced pneumonitis in rats // *J. Nutr.* – 1998. – Vol. 128 (10). – P. 1661–1664.
369. Клебанов Г. И., Любичкий О. Б., Ильина С. Е. и др. Антиоксидантная активность ингибиторов свободнорадикальных реакций, используемых в перевязочном материале для лечения ран // *Биол. Мед. Фарм. Хим.* – 2006. – Vol. 52 (1). – P. 69–82.
370. Верижникова У. В., Шаломов И. И., Дорошенко Л. М. Применение препарата «мексидол» в интенсивной терапии пациентов с мультиорганной недостаточностью // *Бюлл. эксперимент. биол. мед.* – 2006. – Прил. 1. – P. 104–107.
371. Лукьянова Л. Д. Биоэнергетическая гипоксия: понятие, механизмы и способы коррекции // *Бюлл. эксперимент. биол. мед.* – 1997. – Vol. 124 (9). – P. 245–254.
372. *Lagan A. L., Melley D. D., Evans T. W., Quiland G. J.* Pathogenesis of the systemic inflammatory syndrome and acute lung injury. – P. role of iron mobilization and decompartmentalization // *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* – 2008. – Vol. 294 (2). – P. L161–L174.
373. Золотов Н. И., Смирнов Л. Д., Кузьмина В. И. и др. Производные 3-оксипиридина как ингибиторы протеолитических ферментов // *Хим.-фарм. журн.* – 1989. – Vol. 23 (2). – P. 133–135.

374. *Allured V. S., Collier R. J., Carrol S. F., Mc Kay C. J.* Structure of exotoxin A *Pseudomonas aeruginosa* at 3.0-angstrom resolution // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1986. – Vol. 83 (5). – P. 1320-1324.
375. *FitzGerald D., Norris R. E., Saelinger C. B.* Receptor-mediated internalization of *Pseudomonas* toxin by mouse fibroblasts // *Cell.* – 1980. – Vol. 21930. – P. 867-873.
376. *Кубишев В. К., Осадчук Т. В., Радавский Ю. Л.* Фурин и его биологическая роль // *Укр. біохім. журн.* – 2007. – Vol. 79 (6). – P. 5-18.
377. *Thomas G.* Furin at the cutting edge: from protein traffic to embryogenesis and disease // *Nat. Rev. // Mol. Cell. Biol.* – 2002. – Vol. 3 (10). – P. 753-766.
378. *Brandhuber B. J., Allured V. S., Falbel T. G., McKay D. B.* Mapping the enzymatic active site of *Pseudomonas aeruginosa* exotoxin A // *Proteins.* – 2004. – Vol. 3 (3). – P. 146-154.
379. *Rankin P. W., Jacobson E. L., Benjamin R. C.* et al. Quantitative studies of inhibitors of ADP-ribosylation *in vitro* and *in vivo* // *J. Biol. Chem.* – 1989. – Vol. 264 (8). – P. 4312-4317.
380. *Visek W. J.* Arginine needs, physiological state and usual diets. A reevaluation // *J. Nutr.* – 1986. – Vol. 166 (1). – P. 36-46.
381. *Boger R. H.* The pharmacodynamics of L-arginine // *J. Nutr.* – 2007. – Vol. 137 (6). – P. 1650S-1655S.
382. *Carrico C. J., Meakins J. L., Marshall C. J.* et al. Multiple-organ-failure syndrome // *Arch. Surg.* – 1986. – Vol. 121 (2). – P. 196-208.
383. *MacFie J., O'Boyle C., Mitchell C. J.* et al. Gut origin of sepsis: a prospective study investigating association between bacterial translocation, gastric microflora, and septic morbidity // *Gut.* – 1999. – Vol. 45 (2). – P. 223-228.
384. *Yang T. C., Zhang S. W., Sun L. N.* et al. Magnolol attenuates sepsis-induced gastrointestinal dysmotility in rats by modulating inflammatory mediators // *World J. Gastroenterol.* 2008. – Vol. 14 (48). – P. 7353-7360.
385. *Galeazzi F., Haapala E. M., van Rooijen N.* et al. Inflammation-induced impairment of enteric nerve function in nematode-infected mice is macrophage dependent // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2000. – Vol. 278 (2). – P. G259-G265.
386. *Lodato R. F., Khan A. R., Zembowicz M. J.* et al. Roles of IL-1 and TNF in the decreased ileal muscle contractility induced by lipopolysaccharide // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 1999. – Vol. 276 (6). – P. G1356-G1362.
387. *Overhaus M., Togel S., Pezzone M. A., Bauer A. J.* Mechanisms of polymicrobial sepsis-induced ileus // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2004. – Vol. 287 (3). – P. G685-G694.
388. *Eskandari M. K., Kalff J. C., Billiar T. R.* et al. LPS-induced muscularis macrophage nitric oxide suppresses rat jejunal circular muscle activity // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 1999. – Vol. 277 (2). – P. G478-G486.
389. *De Winter B. Y., van Nassauw L., de Man J. G.* et al. Role of oxidative stress in the pathogenesis of sepsis ileus in mice // *Neurogastroenterol. Motil.* – 2005. – Vol. 17 (2). – P. 2151-2161.
390. *Ritter C., Andrades M. E., Reinke A.* et al. Treatment with N-acetylcysteine plus deferoxamine protects rats against oxidative stress and improves survival in sepsis // *Crit. Care Med.* – 2004. – Vol. 32 (2). – P. 342-349.
391. *Громова О. А.* Витамин В<sub>5</sub> (Пантотеновая кислота) // *Практика педиатра.* – 2005. – Vol. <http://medi.ru/doc/j01050936.html>

392. *Satoh Y., Habara Y., Ono K., Kanno T.* Carbamylcholine- and catecholamine-induced intracellular calcium dynamics of epithelial cells in mouse ileal crypts // *Gastroenterol.* – 1995. – Vol. 108 (5). – P. 1345–1356.
393. *Ayabe T., Wulff H., Darmoul D.* et al. Modulation of mouse Paneth cell alpha-defensin secretion by mKCa1, a Ca<sup>2+</sup>-activated, intermediate conductance potassium channel // *J. Biol. Chem.* – 2002. – Vol. 277 (5). – P. 3793–3800.
394. *Oke S. L., Tracey K. J.* From CNI-1499 to the immunological homunculus: physiology of the inflammatory reflex // *J. Leukoc. Biol.* – 2008. – Vol. 83 (3). – P. 512–517.
395. *Bustin M.* Regulation of DNA-dependent activities by the functional motifs of the high-mobility-group chromosomal proteins // *Mol. Cell. Biol.* – 1999. – Vol. 19 (8). – P. 5237–5246.
396. *Wang H., Bloom O., Zhang M.* et al. HMG-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice // *Science.* – 1999. – Vol. 285 (5425). – P. 248–251.
397. *Andersson U., Tracey K. J.* HMGB1 in sepsis // *Scand. J. Infect. Dis.* – 2003. – Vol. 35 (9). – P. 577–584.
398. *Yang H., Wang H., Czura C. J., Tracey K. J.* The cytokine activity of HMGB1 // *J. Leukoc. Biol.* – 2005. – Vol. 78 (1). – P. 1–8.
399. *Ulloa L., Bartliwalla F. M., Andersson U.* et al. High mobility group box chromosomal protein 1 as a nuclear protein, cytokine, and potential therapeutic target in arthritis // *Arthritis Rheum.* – 2003. – Vol. 48 (4). – P. 876–881.
400. *Ulloa L.* The vagus nerve and the nicotinic anti-inflammatory pathway // *Nature Rev. Drug Disc.* – 2005. – Vol. 4 (8). – P. 673–684.
401. *Lotze M. T., Tracey K. J.* High-mobility group box 1 protein (HMGB-1): nuclear weapon in the immune arsenal // *Nat. Rev. Immunol.* – 2005. – Vol. 5 (4). – P. 331–342.
402. *Ulloa L., Tracey L. J.* The «cytokine profile»: a code for sepsis // *Trends Mol. Med.* – 2005. – Vol. 11 (2). – P. 56–63.
403. *Scaffidi P., Misteli T., Bianchi M. E.* Release of chromatin protein HMGB-1 by necrotic cells triggers inflammation // *Nature.* – 2002. – Vol. 418 (6894). – P. 191–195.
404. *Rovere-Querini P., Capobianco A., Scaffidi P.* et al. HMGB-1 is an endogenous immune adjuvant released by necrotic cells // *EMBO Rep.* – 2004. – Vol. 5 (8). – P. 825–830.
405. *Watanabe T., Kubota S., Nagaya M.* et al. The role of HMGB-1 on the development of necrosis during hepatic ischemia and ischemia/reperfusion injury in mice // *J. Surg. Res.* – 2005. – Vol. 124 (1). – P. 59–66.
406. *Wang H., Bloom O., Zhang M.* et al. HMGB-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice // *Science.* – 1999. – Vol. 285 (5425). – P. 248–251.
407. *Gardella S., Andrei C., Ferrera D.* et al. The nuclear protein HMGB-1 is secreted by monocytes via non-classical, vesicle-mediated secretory pathway // *EMBO Rep.* – 2002. – Vol. 3 (10). – P. 995–1001.
408. *Ulloa L., Ochani M., Yang H.* et al. Ethyl pyruvate prevents lethality in mice with established lethal sepsis and systemic inflammation // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2002. – Vol. 99 (19). – P. 12351–12356.
409. *Ulloa L., Fink M. P., Tracey K. J.* Ethyl pyruvate protects against lethal systemic inflammation by preventing HMFB-1 release // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2003. – Vol. 987. – P. 319–321.
410. *Wang H., Liao H., Ochani M.* et al. Cholinergic agonists inhibit HMGB-1 release and improve survival in experimental sepsis // *Nat. Med.* – 2004. – Vol. 10 (11). – P. 1216–1221.

411. Liu S., Stolz D. B., Sappington P. L. et al. HMGB-1 is secreted by immunostimulated enterocytes and contributes to cytomix-induced hyperpermeability of Caco-2 monolayers // *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* – 2005. – Vol. 290 (4). – P. C990-C999.
412. Jiang W., Li J., Gallowitsch-Puerta M. et al. The effects of CpG DNA on HMGB1 release by murine macrophage cell lines // *J. Leukoc. Biol.* – 2005. – Vol. 78 (4). – P. 930-936.
413. Crouser E. D., Shao G., Julian M. W. et al. Monocyte activation by necrotic cells is promoted by mitochondrial proteins and formyl peptide receptors // *Crit. Care Med.* – 2009. – Vol. 37 (6). – P. 2000-2009.
414. Tang D., Shi Y., Kang R. et al. Hydrogen peroxide stimulates macrophages and monocytes to actively release HMGB1 // *J. Leukoc. Biol.* – 2007. – Vol. 81 (3). – P. 741-747.
415. Abraham E., Arcaroli J., Carmody A. et al. Cutting edge: HMGB-1 as a mediator of acute lung inflammation // *J. Immunol.* – 2000. – Vol. 165 (5). – P. 2950-2954.
416. Kim J. Y., Pork J. S., Strassheim D. et al. HMGB-1 contributes to the development of acute lung injury after hemorrhage // *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* – 2005. – Vol. 288 (5). – P. L958-L965.
417. Sappington P. L., Yang R., Yang H. et al. HMGB-1 B box increases the permeability of Caco-2 enterocytic monolayers and impairs intestinal barrier function in mice // *Gastroenterol.* – 2002. – Vol. 123 (3). – P. 790-802.
418. Zetterström C., Bergman T., Rynnel-Dagöö B. et al. High mobility group box chromosomal protein 1 ((HMGB1) is an antibacterial factor produced by human adenoid // *Pediatr. Res.* – 2002. – Vol. 52 (2). – P. 148-154.
419. Grover A., Taylor J., Trout J. et al. Mycobacterial infection induces the secretion of high mobility group box 1 (HMGB-1) protein // *Cell. Microbiol.* – 2008. – Vol. 10 (6). – P. 1390-1404.
420. Ueno T., Ikeda T., Ikeda K. et al. HMGB-1 as a useful prognostic biomarker in septic-induced organ failure in patients undergoing PMX-DHP // *J. Surg. Res.* – 2009. – Vol. PMID 20338589.
421. Mantell L. L., Parrish W. R., Ulloa L. HMGB-1 as a therapeutic target for infectious and inflammatory disorders // *Shock.* – 2006. – Vol. 25 (1). – P. 4-11.
422. Kwon W. Y., Suh G. J., Kim K. S. et al. Glutamine attenuates acute lung injury by inhibition of high mobility group box protein-1 // *Brit. J. Nutr.* – 2010. – Vol. 103 (6). – P. 890-898.
423. Calandra T., Spiegel L. A., Metz C. N., Bacula R. Macrophage migration inhibitory factor is critical mediator of the activation of immune cells by exotoxin of gram-positive bacteria // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1998. – Vol. 95 (19). – P. 11383-11388.
424. Calandra T., Echtenacher B., Roy D. L. et al. Protection from septic shock by neutralization of macrophage migration inhibitory factor // *Nat. Med.* – 2000. – Vol. 6 (2). – P. 164-170.
425. Brenner T., Rosenhagen C., Steppan J. et al. Redox responses in patients with sepsis: high correlation of thioredoxin-1 and macrophage migration inhibitory factor plasma levels // *Mediat. Inflamm.* – 2010. – Vol. ID 985614.
426. Lee H. J., Ruskin G., Hussain E. et al. Lung as source of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in septic shock // *Chest.* – 2007. – Vol. <http://meeting.chestplua.org/cgi/content/abstract/132/4/5536>
427. Calandra T., Roger T. Macrophage migration inhibitory factor: a regulator of innate immunity // *Nat. Rev. Immunol.* – 2003. – Vol. 3 (10). – P. 791-800.

428. Mitchell R. A., Liao H., Chesney J. et al. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) sustains macrophage proinflammatory function by inhibiting p53: regulatory role in the innate immune response // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2002. — Vol. 99 (1). — P. 345–350.
429. Xie B., Wang F., Shen X. et al. Does macrophage migration inhibitory factor function as a switch in sepsis circulation? // Internet J. Med. Update. — 2008. — Vol. 3 (2). — P. 40–45.
430. Van Cromphaut S. J., Vanhorebeek I., van den Berghe G. Glucose metabolism and insulin resistance in sepsis // Curr. Pharm. Des. — 2008. — Vol. 14 (19). — P. 1887–1899.
431. Carlson G. L. Insulin resistance in human sepsis: implications for the nutritional and metabolic care of the critically ill surgical patients // Annu. R. Coll. Surg. Engl. — 2004. — Vol. 86 (2). — P. 75–81.
432. Bernhagen J., Calandra T., Mitchell R. A. et al. MIF is pituitary-derived cytokine that potentiates lethal endotoxemia // Nature. — 1993. — Vol. 356 (6448). — P. 765–759.
433. Chaisavaneeyakorn S., Lucchi N., Ottoro C. et al. Immunohistological characterization of macrophage migration inhibitory factor expression in Plasmodium falciparum-infected placentas // Infect. Immun. — 2005. — Vol. 73 (6). — P. 3287–3293.
434. Matsunaga J., Sinha D., Solano F. et al. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) — its role in catecholamine metabolism // Cell. Mol. Biol. — 1999. — Vol. 45 (7). — P. 1035–1040.
435. Cooke G., Armstrong M. E., Donnelly S. C. Macrophage migration inhibitory factor (MIF), enzymatic activity and the inflammatory response // Biofactors. — 2009. — Vol. 35 (2). — P. 165–168.
436. Плужников Н. Н., Пиотровский Л. Б., Ченур С. В. Тиол-дисульфидные превращения в рецепции полипептидных молекул: взгляд токсиколога // Актуальные вопросы профилактики и терапии интоксикаций. — СПб.: Астерион, 2005. — С. 90–101.
437. Lang C. H. Sepsis-induced insulin resistance in rat is mediated by a beta-adrenergic mechanism // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. — 1992. — Vol. 263 (4). — P. 703–711.
438. Senter P. D., Al-Abed Y., Metz C. N. et al. Inhibition of macrophage migration inhibitory factor (MIF) tautomerase and biological activities by acetaminophen metabolites // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2002. — Vol. 99 (1). — P. 144–149.
439. Cohen J. Recent developments in the identification of novel therapeutic targets for the treatment of patients with sepsis and septic shock // J. Infect. Dis. — 2003. — Vol. 35 (9). — P. 690–696.
440. Rittirsch D., Flierl M. A., Ward P. A. Harmful molecular mechanisms in sepsis // Nat. Rev. Immunol. — 2008. — Vol. 8 (10). — P. 776–787.
441. Parrish W. R., Gallowitsch-Puerta M., Czura C. J., Tracey K. J. Experimental therapeutic strategies for severe sepsis: mediators and mechanisms // Ann. N. Y. Acad. Sci. — 2008. — Vol. 1144. — P. 210–236.
442. WO/2009/085180.
443. Al-Abed Y., Dabideen D., Aljabari B. et al. ISO-1 binding to the tautomerase active site of MIF inhibits its pro-inflammatory activity and increases survival in severe sepsis // J. Biol. Chem. — 2005. — Vol. 280 (44). — P. 36541–36544.
444. US Patent application 20090318509.



## ГЛАВА 3. ТЕРАПИЯ ВИРУСНЫХ ПНЕВМОНИЙ (ОБОСНОВАНИЕ ПОДХОДОВ)

Вирусы гриппа постоянно персистируют в человеческой популяции, обуславливая ежегодные сезонные эпидемии вследствие витамин D<sub>3</sub>-ассоциированного ослабления иммунной системы в холодное время года [179] и незначительного изменения антигенных характеристик гликопротеинов гемагглютинина и нейраминидазы оболочки вириона [180]. Помимо сезонных эпидемий, иногда возникают пандемии гриппа. Всего в течение последнего столетия наблюдалось три таких пандемии (1918 г., 1957–1958 гг., 1968 г.), унесшие многие миллионы человеческих жизней. Высокую смертность предопределяли вирулентность пандемических штаммов вируса (показано и на примере вируса штамма А Н1N1 пандемии 1918 г. [181]) и, по-нашему мнению, мощная иммунореактивность лиц молодого возраста. Действительно, в период пандемии гриппа А Н2N2 в 1957–1958 гг. и, по-видимому, пандемии вируса А Н1N1 1918 г. летальность была наиболее высокой среди прежде здоровых людей 18–35 лет [182] при относительно умеренных ее показателях в более старших возрастных группах [183]. В какой-то степени относительно более благоприятному протеканию инфекционного процесса в старших возрастных группах, вероятно, способствовала и персистенция иммунологической памяти в среде этих поколений, ранее контактировавших со штаммами вирусов, подобных пандемическому. При этом основной причиной гибели людей была первичная вирусная пневмония [182], остающаяся наиболее грозным клиническим проявлением гриппозной инфекции и в наши дни [184]. По поводу заболевания гриппом только в США ежегодно госпитализируется 200 000 больных и регистрируется более 35 000 смертельных исходов [185]. Следует отметить, что летальность при сезонных эпидемиях гриппа в течение последних тридцати лет постоянно увеличивался [185, 186]. Суммарно по всем странам мира вирус гриппа ежегодно в период сезонных эпидемий уносит жизни 250 000–500 000 человек [187], а непосредственной причиной смерти чаще всего выступает вирусная пневмония, поэтому понятны истоки тревоги медицинской (и не только) общественности после обнаружения в 2009 году нового штамма вируса гриппа А Н1N1, который классифицирован как пандемический. К моменту официального объявления Генеральным секретарем ВОЗ М. Chan (10.08.2010 г.) об окончании пандемии А Н1N1 в мире зарегистрировано 18 500 смертей от данной инфекции [188, 189]. Оставив за скобками вопросы о странностях «последней» пандемии гриппа, обратим внимание лишь на то, что первичная вирусная пневмония по-прежнему остается угрожающим жизни проявлением заболевания гриппом (и во время пандемии, и в период сезонных эпидемий), а возможности современной медицины в области лечения вирусных пневмоний трудно оценить положительно.

Вирусы гриппа приобретают способность проникать в эпителиоциты дыхательных путей посредством эндоцитоза после взаимодействия гемагглютинина вирусной оболочки с плазмомембранными рецепторами клеток. Однако потенциал такого взаимодействия получает шанс реализоваться только в том случае, если гемагглютинин вириона предварительно подвергся протеолитическому процессингу под влиянием трипсин-подобных (сериновых) протеиназ, секретируемых клетками организма хозяина [1–3]. Гемагглютинин (НА)

синтезируется в виде полипептидного прекурсора (обозначается как НАО) массой 75 кДа, который в процессе самосборки образует гомотример и подвергается посттрансляционной модификации путем N-гликозилирования, пальмитоилирования и протелитического расщепления секреторными протеиназами [4]. В муциновой слизи дыхательных путей человека идентифицировано, по крайней мере, пять различных протеолитических энзимов, обладающих способностью активировать вирусы гриппа и обуславливающих органотропизм инфекции [5]. Протеолитическая активность ферментов на слизистой оболочке дыхательных путей в физиологических условиях в значительной степени супрессирована секреторными ингибиторами лейкопротеиназ [6] и существенно возрастает при воспалительных заболеваниях органов дыхания [7–10]. Наблюдаемое при гриппозной инфекции увеличение экспрессии сериновых протеиназ не ограничивается только органами дыхания. В процессе репликации вирусов гриппа индуцируется синтез латентного эктопического панкреатического трипсина (наиболее эффективно осуществляющего протеолитический процессинг гемагглютиниона вирионов) [11], про-матриксной металлопротеиназы-9 и в других органах и тканях [3]. Ко-экспрессия энзимов создает условия для немедленного протеолитического конвертирования трипсином про-матриксной металлопротеиназы-9 в ее активную форму [9]. Синергичная протеолитическая активность трипсина и металлопротеиназы-9 проявляется деполимеризацией коллагена IV типа интерстиция тканей, базальных мембран капилляров и компонент плотных контактов между эндотелиальными клетками, что сопровождается увеличением проницаемости сосудистой стенки, отеком тканей различных органов и в итоге полиорганной недостаточностью [11]. Высокопатогенные штаммы вируса гриппа А, в отличие от низкопатогенных, в результате мутации приобрели несколько дополнительных локусов протеолиза на сайте расщепления гемагглютиниона и способность активироваться цитозольным протеолитическим энзимом фурин, что и предопределяет их высокую вирулентность [12]. Высокопатогенные штаммы вируса гриппа выделяются из клетки уже в активном состоянии и это может сопровождаться инфицированием клеток не только дыхательной системы, но и других органов и тканей. Поскольку протеолитический процессинг гемагглютиниона оболочки вирусов гриппа А и В человека критически важное событие в инициации инфекционного процесса, постольку репликация вирусов гриппа подавляется ингибиторами сериновых протеиназ:  $\epsilon$ -аминокапроновой кислотой, апротинином [13, 14], леупептином [15], ингибиторами эндопротеиназы фурин [16, 17] и препаратами, стимулирующими экспрессию эндогенных ингибиторов секреторных лейкопротеиназ [18, 19]. Таким образом, ингибирование активности сериновых протеиназ, прерывающее мультициклическую репликацию вирусов гриппа, может быть важным направлением программы терапии вирусных пневмоний.

Взаимодействие гомотримеров гемагглютиниона оболочки вируса гриппа с плазмомембранными рецепторами эпителиальной клетки, как первый этап интернализации, завершается образованием эндосомы. Следующий этап – выделение генома вируса (РНК-фрагментов) в цитозоль клетки – зависит от активности  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФ-азы, локализованной в эндосомальной мембране и функционирующей в качестве протонной помпы.  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФ-аза обеспечивает закисление среды внутри эндосом/лизосом (до значения рН 5,0), т. е. ацидификацию эндосом/лизосом [20]. Закисление внутриэндосомальной среды, т. е.

накопление протонов ( $H^+$ ) в объеме эндосом, позволяет реализоваться протонофорному потенциалу тетрамеров M2-протеина оболочки вирусной частицы [21, 22]. Проникновение ионов водорода внутрь вирусной частицы сопровождается конформационными изменениями липопротеидов, декомпозицией структурных компонент оболочки вириона и, в конечном итоге, лабилизацией его генома [23, 24]. Естественно, что химические соединения, проявляющие свойства ингибиторов ацидификации эндосом/лизосом, и препараты, блокирующие протонофорную функцию тетрамера M2-протеина, обладают противовирусной активностью [25, 26], а их применение может быть эффективным при лечении вирусных пневмоний.

Процесс репликации вируса гриппа заканчивается гибелью инфицированной клетки, разрушением митохондрий (каждая клетка человека содержит от нескольких сотен до нескольких тысяч данных органелл [27, 28]) и выделением внутриклеточного содержимого, в том числе вирусных частиц и внутримитохондриальных макромолекул, во внеклеточную среду. Митохондрии — внутриклеточные органеллы, являющиеся потомками древних эндосимбионтных бактерий [29], несущие родовые признаки прокариот. В частности, митохондриальная ДНК, как и ДНК бактерий, имеет неметилированные последовательно расположенные азотистые основания цитозин и гуанин (CpG-последовательности) [30]. В отличие от этого, в геноме эукариот цитозин CpG-динуклеотидов обычно метилирован [31]. Наличие в биосредах организма млекопитающих фрагментов ДНК, имеющих неметилированные CpG-последовательности, распознается рецепторами TLR9 (локализованы в лизосомах [32]) полиморфноядерных нейтрофилов, воспринимается как присутствие бактерий и сопровождается их активированием [33].

Другими структурными компонентами митохондрий, не встречающимися в физиологических условиях в цитозоле эукариотических клеток и биосредах многоклеточных организмов, которые характерны только для бактерий, являются формил-пептиды. Трансляция (синтез белков) в митохондриях, как и у прокариот, всегда начинается с особой, модифицированной аминокислоты — N-формилметионина. В эукариотических клетках эта аминокислота при синтезе полипептидных цепей не используется, поэтому наличие N-формилметионина на конце полипептидной цепи — надежный индикатор присутствия бактерий. N-формилпептиды распознаются цитозольным рецептором FPR1 (Formyl Peptide Receptor 1 — FPR1) иммунокомпетентных клеток (нейтрофилов), что резко стимулирует их активность [34, 35].

Взаимодействие неметилированных CpG-содержащих фрагментов митохондриальной ДНК и формил-пептидов с рецепторами TLR9 и FPR1 сопровождается активированием фосфолипаз C (PLCs), циклазы/гидролазы АДФ-рибозы и, соответственно, возрастанием в цитозоле нейтрофилов уровней таких вторичных мессенджеров как инозитол-1,4,5-трифосфат (Ins3P) и циклическая АДФ-рибоза (сADPR) [36–38]. Такая динамика Ins3P и сADPR обуславливает увеличение уровня ионов кальция в цитозоле лейкоцитов [30, 39]. Кальций — наиболее универсальный и физиологически значимый сигнальный катион (вторичный мессенджер) [40–42]. Градиент концентрации ионов кальция на цитоплазматической мембране клеток в состоянии покоя достигает четырех порядков: в интерстициальной жидкости уровень  $Ca^{2+}$  несколько превышает  $1 \cdot 10^{-3}$  М, а в цитозоле содержание данного катиона близко к величине  $1 \cdot 10^{-7}$  М [43, 44]. Столь

разительное отличие уровней  $\text{Ca}^{2+}$  во внутри- и внеклеточной средах таит в себе опасность токсических эффектов катиона при его избыточном поступлении в клетку и требует тщательного гомеостатирования [43].

В цитозоль клеток из интерстициальной жидкости  $\text{Ca}^{2+}$  поступает (при соответствующих модулирующих воздействиях) либо через потенциал-зависимые  $\text{Ca}^{2+}$ -каналы VDCCs (Voltage-Dependent  $\text{Ca}^{2+}$  Channels – VDCCs), либо через рецептор- и депо-управляемые кальциевые каналы (Receptor-Operated  $\text{Ca}^{2+}$  Channels – ROCCs; Storage-Operated  $\text{Ca}^{2+}$  Channels – SOCCs). Не забывая о градиенте уровней ионов кальция на цитоплазматической мембране клеток, укажем на то, что с целью защиты от перегрузки  $\text{Ca}^{2+}$  плазмомембранные кальциевые каналы функционально организованы так, что способны пропустить только «запальный» пул ионов. Относительно небольшое количество кальция («запальный» пул), проникшего в цитозоль клетки через плазмомембранные кальциевые каналы, амплифицируется выделением внутриклеточного  $\text{Ca}^{2+}$  из цистерн эндоплазматического ретикулума. Кальций из эндоплазматических цистерн может мобилизовываться через локализованные в эндомембранах различные типы  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов: рианодиновые рецепторы RyRs (Ryanodine Receptors – RyRs), инозитол-1,4,5-трифосфат-чувствительные рецепторы Ins3PRs (Inositol 1,4,5-trisphosphate Receptors – Ins3PRs) и NAADP-зависимые рецепторы эндосом и лизосом NAADPRs (Nicotinic Acid Adenine Dinucleotide Phosphate Receptors – NAADPRs) [45–49]. В отличие от Ins3PRs и NAADPRs, стимулируемых специфическими лигандами – инозитол-1,4,5-трифосфатом и фосфатом аденидинуклеотида никотиновой кислоты соответственно, рианодиновые рецепторы переходят в открытое состояние под влиянием ионов кальция, выполняющих роль сигнальной субстанции [50, 51]. Ионизированный кальций, при возрастании уровня данного двухвалентного катиона в цитозоле клеток, активируя RyRs, усиливает «запальный» пул сигнального катиона. В протекании процесса значимо и то, что эффективность инозитол-1,4,5-трифосфата как лиганда Ins3PRs зависит от уровня  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле клетки [52, 53]. Под влиянием ионов кальция Ins3PRs сенситизируются к воздействию инозитол-1,4,5-трифосфата [54] и при достижении определенной концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле Ins3PRs могут переходить в открытое состояние даже в условиях фонового содержания Ins3P в клетке [52]. В свою очередь, состояние RyRs контролируется (сенситизируется) циклической АДФ-рибозой [55, 56]. В отличие от RyRs и Ins3PRs, функциональное состояние NAADPRs не зависит от уровня ионизированного кальция в цитозоле [57]. Однако в условиях вирусного инфекционного процесса, вероятно, «запальный» пул  $\text{Ca}^{2+}$  из эндосом/лизосом посредством стимуляции RyRs и сенситизации Ins3PRs, может участвовать в инициации перегрузки цитозоля клетки ионизированным кальцием.

Повышение уровня цитозольного  $\text{Ca}^{2+}$  сопровождается стимуляцией активности лейкоцитов [30, 39]. Активированные нейтрофилы начинают секретировать провоспалительные хемокины и мигрировать по градиенту концентрации в области, содержащие более высокие уровни лигандов TLR9 и FPR1. Кроме того, стимулированные формил-пептидами и фрагментами митохондриальной ДНК, нейтрофилы обильно секретуют ММР-8 (матриксная металлопротеиназа 8), субстратами которой являются коллаген и  $\alpha_1$ -антитрипсин,  $\alpha_2$ -антиплазмин (ингибиторы секреторных протеиназ) [58, 59]. Это сопровождается многократным возрастанием активности секреторных протеиназ в муциновой

слизи эпителиальной выстилки дыхательных путей (способствует мультициклической репликации вирионов) [18, 60], увеличением проницаемости альвеолярно-капиллярных мембран и разрыхлением интерстициального матрикса ткани легких. Помимо того, активированные макрофаги в пессимальном количестве генерируют прооксиданты, повреждающие структурные элементы дыхательных путей и легочной ткани [61–64].

Активирование полиморфноядерных нейтрофилов опосредуется кальцинейрином – серин/треониновой фосфатазой, приобретающей фосфатазную активность под влиянием  $\text{Ca}^{2+}$ /кальмодулина [65, 66], обеспечивающего экспонирование активного центра каталитического домена энзима [67]. Активная форма кальцинейрина, дефосфорилируя ядерный фактор транскрипции NF-AT, стимулирует его транслокацию из цитозоля в ядро клетки, связывание с промоутерными участками провоспалительных генов, что проявляется экспрессией провоспалительных факторов [39]. Провоспалительные цитокины IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , в свою очередь, стимулируют синтез *de novo* фосфолипазы A2 (PLA2) и циклооксигеназы 2 (COX-2) (под влиянием IL-1 $\beta$  и TNF $\alpha$  уровень COX-2 мРНК увеличивается в 40 раз) [68, 69]. В условиях повышенного уровня цитозольного кальция фосфолипаза A2 транслоцируется к внутриклеточным мембранам и селективно расщепляет фосфолипиды, в состав которых входит арахидоновая кислота [70, 71]. Арахидоновая кислота, выделяемая фосфолипазой A2 из sn-2 позиции фосфолипидов, цикло- и липоксигеназами быстро трансформируется в эйкозаноиды и свободнорадикальные продукты, способные в условиях воспаления при вирусной инфекции оказывать выраженное повреждающее действие на клетки и ткани [72–74]. Кроме того, арахидоновая кислота – ключевой патогенетический фактор разобщения окисления и фосфорилирования в митохондриях, набухания митохондрий и формирования митохондриальной поры транзитной проницаемости с выделением проапоптотических факторов [75–78].

Таким образом, после начального стимула, обусловившего поступление ионов кальция в клетку, дальнейшее увеличение концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле уже не зависит от состояния плазмомембранных  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов, определяется, главным образом, рיאодиновыми рецепторами [79, 80] и управляется цитозольными механизмами. Ионизированный кальций, будучи универсальным стимулятором энергопотребления в клетке, одновременно увеличивает и энергопродукцию в митохондриях, оптимизируя таким образом энергетический бюджет клетки путем сопряжения процессов. Однако в патофизиологических условиях данная сигнальная субстанция может приобретать характер патогенетически весомого фактора (формирующего и усиливающего энергодефицит, стимулирующего продукцию прооксидантов в митохондриях, нарушающего проницаемость митохондриальных мембран) [81]. Одним из направлений терапии вирусных пневмоний должно быть обеспечение гомеостатирования внутриклеточного кальция.

В формировании симптомокомплекса проявлений и осложнений вирусных пневмоний значимую роль играет ксантиноксидоредуктаза. Ксантиноксидоредуктаза – цитозольный фермент [82], экспрессия которого резко стимулируется под влиянием гипоксии [83] и провоспалительных медиаторов, цитокинов [84, 85]. При патофизиологических условиях ксантиноксидоредуктаза выделяется из клеток в кровь (преобладает оксидазная форма фермента [86])

и фиксируется на плазматической мембране эндотелиоцитов в зоне воспаления посредством физико-химического взаимодействия с гликозаминогликанами [87]. Ксантиноксидоредуктаза, локализованная на цитоплазматической мембране эндотелиоцитов, в процессе окисления пуринов продуцирует супероксидный анион-радикал и одновременно может восстанавливать на другом активном сайте нитрит- и нитрат-анионы до оксида азота ( $\text{NO}$ ) [88], т. е. рециклировать данный вазодилатирующий агент. Продукция прооксидантов ( $\text{O}_2^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{NO}$ ,  $\text{ONOO}^-$ ) ксантиноксидоредуктазой потенциально очень опасна (особенно в сосудистом ложе легких), поскольку в итоге может приводить к повреждению эндотелиальной выстилки сосудов, альтерации паренхимы легочной ткани, неблагоприятным изменениям со стороны свертывающей системы крови и неконтролируемой вазодилатации. Попытки использования ингибитора ксантиноксидоредуктазы аллопуринола (аллопуринол – неметаболизируемый изомер гипоксантина, конкурентно ингибирующий окислительную трансформацию гипоксантина и ксантина на молибдоптеринсодержащем сайте энзима [89, 90]) в качестве терапевтического средства при вирус гриппа А-индуцированной пневмонии в диапазоне суточных доз 5–50 мг/кг не увенчались успехом – аллопуринол не оказывал влияния на течение и исходы вирусной инфекции [91]. Отсутствие терапевтического эффекта в данном случае легко объясняется тем, что при ингибировании (Mo-Co)-содержащего центра ферментом аллопуринолом сохраняется NADH-оксидазная и нитрит-, нитрат-редуктазные активности ксантиноксидоредуктазы, реализуемые на FAD-зависимом домене энзима [92–94]. Поскольку среди фармакологических средств пока нет препаратов, способных ингибировать FAD-зависимую активность ксантиноксидоредуктазы, постольку при лечении больных с вирусными пневмониями целесообразно обеспечение десорбции данного прооксидантного энзима с цитоплазматической мембраны эндотелиоцитов.

Известно, что супероксидный анион-радикал в отношении органических и неорганических химических соединений, в зависимости от их химической природы, способен выполнять роль как окислителя ( $E_0 \text{O}_2^-/\text{H}_2\text{O}_2 = +0,89 \text{ В}$ ), так и восстановителя ( $E_0 \text{O}_2/\text{O}_2^- = -0,33 \text{ В}$ ) [95]. Восстановительные свойства супероксид-радикала, продуцируемого в пессимальном количестве при вирусной пневмонии, в зоне воспаления реализуется, в частности, в восстановительном высвобождении ионов железа из их комплексов с биомакромолекулами. Например, в составе трансферрина и ферритина железо представлено только в форме ионов  $\text{Fe}^{3+}$ , которые под влиянием супероксидного анион-радикала восстанавливаются до  $\text{Fe}^{2+}$  и покидают указанные выше белки [96, 97]. В присутствии ионов железа и частично восстановленных форм кислорода формируется своеобразный каталитический «реактор» редокс-катаболической продукции прооксидантов и, в частности, чрезвычайно токсичного гидроксильного радикала [98]. Это крайне опасное состояние биологической системы. Удаление свободных ионов железа из биосред организма – вопрос жизни и смерти при вирусных пневмониях. Попытки использования для связывания ионов железа доступных комплексонов (десферроксамина) при вирусных пневмониях не только не оказали положительного влияния на течение патологического процесса, но и, вопреки ожиданиям, увеличили летальность [91]. Объяснение данного парадокса в том, что ионы железа, хелатированные десферроксамином, не теряют каталитической активности, т. е. не утрачивают способность претерпевать редокс-

превращения и таким образом участвовать в осуществлении реакций Фентона и Осипова, поэтому для удаления ионов железа из биосред организма необходимо использовать такие комплексоны, которые лишают ионы данного металла переходной валентности каталитической активности.

Современное понимание основных патогенетических механизмов инфекционного процесса при вирусных пневмониях со всей определенностью делает очевидным то, что при лечении данной патологии целесообразна реализация комплексной программы терапевтических мероприятий, обеспечивающей влияние как на процесс мультициклической репликации вирусов, так и на формирование неадекватной воспалительной реакции организма больного, индуцируемой цитолизом.

Для предупреждения инфицирования эпителиальных клеток дыхательных путей вирионами гриппа посредством эндоцитоза, для недопущения прогрессирования инфекционного процесса целесообразно ингибирование трипсин-подобных (сериновых протеиназ) посредством применения мексидола (эмоксипина сукцината). Эмоксипин быстро фосфорилируется в биосредах организма. фосфорилированные производные 3-оксипиридина — эффективные ингибиторы сериновых (к числу которых относится и цитозольная протеиназа фурин), металлозависимых протеиназ и выступают в качестве комплексонов ионов железа [99, 100]. Ингибирование трипсин-подобных протеиназ предупреждает инфицирование эпителиальных клеток вирусами гриппа, так как нарушается взаимодействие вириона с рецепторами цитоплазматической мембраны эпителиоцитов, что исключает интернализацию вирусных частиц. Хелатирование свободных ионов железа фосфорилированными производными эмоксипина с образованием комплексов в которых исключена возможность редокс-превращений данного катиона переменной валентности, блокирует каталитическую продукцию гидроксильного радикала при участии железа в реакциях Фентона и Осипова, что проявляется выраженным антиоксидантным эффектом.

В клинической практике широкое применение находит в качестве безопасного, эффективного и доступного лекарственного средства хлорохин (Chloroquine):

- для профилактики и терапии малярии [101, 102];
- при лечении проказы [103];
- как противовоспалительное средство при лечении ревматоидного артрита [104, 105];
- при лечении амёбных гепатитов [106];
- в терапии злокачественных новообразований как средство сенситизации [107, 108];
- при лечении метаболического синдрома и воспалительных заболеваний бактериальной этиологии [109, 110].

В плане рассматриваемого вопроса значимо то, что хлорохин будучи слабоосновным амином подавляет ацидификацию эндосом/лизосом [20, 111–113], ингибирует протонофорную активность белка M2 вирусной оболочки [22, 26, 114], что блокирует процесс выделения РНК-фрагментов из липопротеидов вириона, транслокацию генома инфекционного агента в ядро клетки [21, 23, 115, 116] и проявляется подавлением репликации вирусов гриппа [24, 25, 117, 118] при концентрации препарата в крови ниже той, что достигается при лечении малярии. Другой важнейший аспект физиологической активности хлорохина —

препарат признан эталонным ингибитором TLR9 [119] и способен ингибировать ряд других Toll-подобных рецепторов (TLR3, 7 и 8) [120, 121]. Кроме того, хлорохин уменьшает секрецию провоспалительных цитокинов (TNF $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-10, IL-12) клетками иммунной системы, подавляет активацию ядерных факторов транскрипции (NF- $\kappa$ B, AP-1), экспрессию Toll-подобных рецепторов (TLR9, TLR4) и ингибирует проапоптотический энзим каспазу-3, что значительно снижает выраженность воспалительной реакции и проявляется цитопротективными эффектами [119, 121]. В формировании проявлений физиологической активности хлорохина значимо и то, что в микромолярном диапазоне концентраций данное лекарственное средство проявляет свойства ингибитора фосфолипазы A2 и плазмомембранных медленных Ca<sup>2+</sup>-каналов [122, 123].

Спектр физиологических эффектов хлорохина, предлагаемого для лечения вирусных пневмоний, чрезвычайно удачно дополняется палитрой фармакологических эффектов циклоспорина А (циклического пептида, содержащего 11 аминокислотных остатков), обладающего:

- мощным ингибирующим воздействием на внутриклеточный формилпептидный рецептор 1 (FPR1) [124, 125];
- выраженным ингибирующим влиянием на рианодиновые рецепторы (RyRs) эндоплазматического ретикулума [126–128];
- способностью супрессировать экспрессию фосфолипазы A2, индуцированную провоспалительными цитокинами [68, 78, 129];
- прямым ингибирующим действием на активность кальцинеина [129], что, помимо прочего, предупреждает дефосфорилирование-активирование конститутивных изоформ NOS [130, 131];
- эффектом подавлять экспрессию индуцибельной и конститутивных изоформ NOS [132, 133];
- свойством эталонного ингибитора митохондриальной поры транзитной проницаемости, проявляющимся выраженной цитопротективной активностью [134–136].

Способность циклоспорина А модулировать важнейшие биохимические механизмы гомеостатирования уровня цитозольного кальция, ингибировать эффекты провоспалительных цитокинов и формирование митохондриальной поры транзитной проницаемости позволяет рассматривать данный фармакологический препарат в качестве цитопротективного средства при критических состояниях, в том числе и при вирусных пневмониях. В клинических испытаниях эффективности и безопасности ежедневного двукратного в течение трех суток внутривенного назначения циклоспорина А в диапазоне доз 1,23–5 мг/кг в день в качестве цитопротектора пациентам с тяжелой черепно-мозговой травмой установлено достоверно благотворное влияние препарата на формирование исходов травмы при отсутствии неблагоприятных эффектов [137].

При комбинированном применении хлорохина и циклоспорина А взаимодополняющая плеiotропность физиологических эффектов препаратов позволяет положительно влиять на большую часть патогенетических механизмов формирования воспалительной реакции при вирусных пневмониях. Но ни один из указанных препаратов не обладает антиоксидантной активностью, а значимость оксидативного стресса в патогенезе вирусных пневмоний такова, что при лечении данной категории больных показана интенсивная антиоксидантная терапия.



Помимо прямого повреждающего воздействия на биомакромолекулы, внутриклеточные прооксиданты, формируя сдвиг редокс-потенциала в сторону окислительных значений, выступают в качестве регуляторного стимула, модулирующего экспрессию генов ранней воспалительной реакции [138]. В условиях оксидативного стресса стимулируется экспрессия TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  [139], IL-6 [140], IL-8 [141], металлопротеиназ (MMP-1, MMP-2, MMP-9) [142–144] посредством редокс-активации ядерного фактора транскрипции NF- $\kappa$ B [145]. Подобным же образом прооксиданты стимулируют активность и других факторов транскрипции: AP-1 (Activated Protein-1 – AP-1) [146], HIF-1 $\alpha$  (Hypoxia-Inducible transcription Factor-1 $\alpha$  – HIF-1 $\alpha$ ) [147] и CREB (cAMP-Responsive Element-Binding protein – CREB) [148]. Весьма значима роль пероксинитрита в индукции экспрессии генов ранней воспалительной реакции [149–153, 164]. Поэтому не удивительно, что антиоксиданты оказывают выраженное противовоспалительное действие [154–156].

Известно, что фармакологическая коррекция проявлений оксидативного стресса эффективна только при комплексном применении водо-, жирорастворимых антиоксидантов, восстанавливающих их тиолов и комплексонов (хелаторов) металлов переменной валентности [157–159]. В рамках данной концепции при лечении вирусных пневмоний целесообразно использовать: аскорбиновую кислоту,  $\alpha$ -токоферол, в качестве восстанавливающего их тиола – унитиол, а для восполнения пула эндогенного глутатиона – аминокислоту-прекурсор N-ацетилцистеин. В протекции биологических мембран от повреждающего действия прооксидантов, в кооперации с  $\alpha$ -токоферолом (формируя в липидном бислое мембран динамичные сенсорно-проводящие комплексы, защищающие 300–500 молекул фосфолипидов [160]), принимает участие и ретинол (витамин А), усиливающий антиоксидантные эффекты витамина Е [161]. Кроме того, в присутствии витамина А значимо тормозится биоконвертирование арахидоновой кислоты в провоспалительные простагландины [162], что проявляется, в частности, ингибированием индуцированного проникающей радиацией пульмонита [163]. Таким образом, использование витамина А в программе антиоксидантной терапии при вирусных пневмониях – необходимость.

Неотъемлемая часть антиоксидантного комплекса при лечении вирусных пневмоний – эмоксипина сукцинат (мексидол), как соединение-прекурсор фосфорилированных производных 3-оксипиридина, являющихся эффективными комплексонами ионов железа [100]. Необходимость интенсивной антиоксидантной терапии при вирусных пневмониях обусловлена еще и тем, что прооксиданты стимулируют инфлюкс кальция в цитозоль фагоцитов, обеспечивая поддержание полиморфноядерных нейтрофилов в активированном состоянии [42].

Известно, что в верхних отделах дыхательных путей активность секреторных протеиназ (обеспечивающих протеолитический процессинг НА вируса гриппа) в значительной степени подавляется секреторными ингибиторами лейкопротеиназ, а в нижних отделах – сурфактантом [165–167]. И естественно, что препараты, обладающие способностью индуцировать синтез физиологических ингибиторов секреторных протеиназ, значимо супрессируют мультициклическую репликацию вирусов гриппа в эпителии дыхательных путей. Одним из таких препаратов является амброксол [167, 168]. Кроме того, спектр фармакологической активности амброксола включает, помимо его муколитических эффектов, антиоксидантное действие [169], способность стимулировать локальную

(органы дыхания) экспрессию секреторных иммуноглобулинов IgA и IgG [168] и временно супрессировать выделение лейкоцитами и тучными клетками провоспалительных цитокинов и гистамина [170], поэтому в состав терапевтических средств при лечении вирусных пневмоний целесообразно включать и амброксол.

Интерферон — физиологический белковый фактор противовирусной защиты эукариотических организмов, применяемый для профилактики [171] и лечения вирусной инфекции [172]. Однако высокая стоимость препарата и обилие побочных эффектов при его использовании (лихорадка, лейкопения, нейтропения, тромбоцитопения, анемия, миалгия, аутоиммунный синдром, диспептические явления и депрессия) ограничивают применение интерферона в клинической практике [173]. Поэтому в качестве противовирусных средств при лечении вирусных пневмоний целесообразно использовать эффективные индукторы интерферона, в частности новокаин ( $\beta$ -диэтиламиноэтиловый эфир парааминобензойной кислоты). Новокаин — препарат, отличающийся хорошей переносимостью, мягким спазмолитическим действием, относительно высокой скоростью гидролиза в биосредах организма с выделением парааминобензойной кислоты, оказывающей мощное интерферон-индуцирующее действие [174, 175].

Только в последние годы стало обращать на себя внимание иммуномодулирующее действие 1,25-дигидроксивитамина  $D_3$  (активная форма витамина  $D_3$ ). Иммуномодулирующая активность витамина  $D_3$  опосредуется специфическими рецепторами и факторами транскрипции NF-AT и NF- $\kappa$ B либо реализуется при его непосредственном взаимодействии с воспринимающими витамин  $D_3$  элементами промоуторных регионов генов (экспрессия, по крайней мере, нескольких сотен генов контролируется витамином  $D_3$ ) [176]. В плане рассмотрения данного вопроса значимо, что в присутствии активной формы витамина  $D_3$  супрессируется экспрессия провоспалительных цитокинов [177]. С учетом распространенности гиповитаминоза  $D_3$  в осенне-зимний период среди населения умеренных широт [178] включение данного витамина в перечень средств терапии вирусных пневмоний также представляется вполне правомерным.

## Литература

1. Klenk H. D., Rott R., Orlich M., Blodorn J. Activation of influenza A viruses by trypsin treatment // *Virology*. — 1975. — Vol. 68 (2). — P. 426–439.
2. Lazarowitz S. G., Choppin P. W. Enhancement of the infectivity of influenza A and B viruses by proteolytic cleavage of the hemagglutinin polypeptide // *Virology*. — 1975. — Vol. 68 (2). — P. 440–454.
3. Kido H., Okumura Y., Takahashi E. et al. Host envelope glycoprotein processing proteases are indispensable for entry into human cells by seasonal and highly pathogenic avian influenza viruses // *J. Mol. Genetic Med.* — 2009. — Vol. 3 (1). — P. 167–175.
4. Chen J., Lee K. H., Steinhauer D. A. et al. Structure of the hemagglutinin precursor cleavage site, a determinant of influenza pathogenicity and the origin of the labile conformation // *Cell*. — 1988. — Vol. 95 (3). — P. 409–417.
5. Kido H., Okumura Y., Yamada H. et al. Proteases essential for human influenza virus entry into cells and their inhibitors as potential therapeutic agents // *Curr. Pharm. Des.* — 2007. — Vol. 13 (4). — P. 405–414.

6. Okumura Y., Yamada H., Mizuno D. et al. Secretory leukoprotease inhibitor and pulmonary surfactant serve as principal defenses against up-regulating their levels may have therapeutic potential // *Biol. Chem.* — 2004. — Vol. 385 (11). — P. 1029–1034.
7. Reed C. E., Kita H. The role of protease activation of inflammation in allergic respiratory disease // *J. Allerg. Clin. Immunol.* — 2004. — Vol. 114 (5). — P. 997–1008.
8. Higashimoto Y., Yamagata Y., Iwata T. et al. Adenoviral E1A suppresses secretory leukoprotease inhibitor and elafin secretion in human alveolar epithelial cells and bronchial epithelial cells // *Respiration.* — 2005. — Vol. 72 (6). — P. 629–635.
9. Yamada H., Le Q. T., Kousaka A. et al. Sendai virus infection up-regulates trypsin I and matrix metalloproteinase-9, triggering viral multiplication and matrix degradation in rat lungs and lung L2 cells // *Arch. Virol.* — 2006. — Vol. 151 (12). — P. 2529–2537.
10. Gualano R. C., Hansen M. J., Vlahos R. et al. Cigarette smoke worsens lung inflammation and impairs resolution of influenza infection in mice // *Resp. Res.* — 2008. — Vol. 9 (1). — P. 53.
11. Le T. Q., Kawachi M., Yamada H. Identification of trypsin I as a candidate for influenza A virus and Sendai virus envelope glycoprotein processing protease in rat brain // *Biol. Chem.* — 2006. — Vol. 387 (4). — P. 467–475.
12. Stienecke-Grober A., Vey M., Angliker H. et al. Influenza virus hemagglutinin with multibasik cleavage site is activated by furin, a subtilisin-like endoprotease // *EMBO J.* — 1992. — Vol. 11 (7). — P. 2407–2414.
13. Zhirnov O. P., Ovcharenko A. V., Bukrinskaya A. G. Myxovirus replication in chicken embryos can be suppressed by aprotinin due to the blockage of viral glycoprotein cleavage // *J. Gen. Virol.* — 1985. — Vol. 66 (7). — P. 1633–1638
14. Zhirnov O. P., Ikizler M. R., Wright P. F. Cleavage of influenza A virus hemagglutinin in human respiratory epithelium is cell associated and sensitive to exogenous antiproteases // *J. Virol.* — 2002. — Vol. 76 (14). — P. 8682–8689.
15. Zhirnov O. P., Ovcharenko A. V., Bukrinskaya A. G. Suppression of influenza virus replication in infected mice by protease inhibitors // *J. Gen. Virol.* 1984. — Vol. 65 (Pt 1). — P. 191–196.
16. Garten W., Hallenberger S., Ortmann D. et al. Processing of viral glycoproteins by the subtilisin-like endoprotease furin and its inhibition by specific peptidylchloroalkylketones // *Biochimie.* — 1994. — Vol. 76 (3–4). — P. 217–225.
17. Jiao G. S., Cregar L., Wang J. et al. Synthetic small molecule furin inhibitors derived from 2,5-dideoxystreptamine // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2006. — Vol. 103 (52). — P. 19707–19712.
18. Yang B., Yao D. F., Ohuchi M. et al. Ambroxol suppresses influenza-virus proliferation in the mouse airway by increasing antiviral factor levels // *Eur. Respir. J.* — 2002. — Vol. 19 (5). — P. 952–958.
19. Kido H., Okumura Y., Yamada H. et al. Secretory leukoprotease inhibitor and pulmonary surfactant serve as principal defenses against influenza A virus infection in the airway and chemical agents up-regulating their levels may have therapeutic potential // *Biol. Chem.* — 2004. — Vol. 385 (11). — P. 1029–1034.
20. Cain C. C., Sipe D. M., Murphy R. F. Regulation of endocytic pH by the Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase in living cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1989. — Vol. 86 (2). — P. 544–548.
21. Pinto L. H., Holsinger L. J., Lamb R. A. Influenza virus M2 protein has ion channel activity // *Cell.* — 1992. — Vol. 69 (3). — P. 517–528.

22. *Surgue R. J., Hay A. J.* Structural characteristics of the M2 protein of influenza A viruses: a evidence that it forms a tetrameric channel // *Virology*. – 1991. – Vol. 180 (2). – P. 617–624.
23. *Yoshimura A., Ohnishi S.* Uncoating of influenza virus in endosomes // *J. Virol.* – 1984. – Vol. 51 (2). – P. 497–504.
24. *Shibata M., Aoki H., Tsurumi T.* et al. Mechanism of uncoating of influenza B virus in MDCK cells: action of chloroquine // *J. Gen. Virol.* – 1983. – Vol. 64 (Pt 5). – P. 1149–1156.
25. *Ooi E. E., Chew J. S., Loh J. P., Chua R. C.* In vitro inhibition of human influenza A virus replication by chloroquine // *Virol. J.* – 2006. – Vol. 3. – P. 39.
26. *Hay A. J., Wolstenholme A. J., Skehel J. J., Smith M. H.* The molecular basis of the specific anti-influenza action of amantadine // *EMBO J.* – 1985. – Vol. 4 (11). – P. 3021–3024.
27. *Poyton R. O., McEven J. E.* Crosstalk between nuclear and mitochondrial genomes // *Annu. Rev. Biochem.* 1996. – Vol. 65. – P. 563–607.
28. *Dobson G. P., Himmelreich U.* Heart design: free ADP scales with absolute mitochondrial and myofibrillar volumes from mouse to human // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2002. – Vol. 1553 (3). – P. 261–267.
29. *Маргелус Л.* Роль симбиоза в эволюции клетки. – М.: Мир, 1983. – 352с.
30. *Zhang Q., Raoof M., Chen Y.* Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury // *Nature*. – 2010. – Vol. 464 (7285). – P. 104–107.
31. *Jablari K., Bernardi G.* Cytosine methylation and CpG, TpG (CpA) and TpA frequencies // *Gene*. – 2004. – Vol. 333. – P. 143–149.
32. *Chockaligam A., Lopez J. L., Brooks J. C., Leifer C. A.* Toll-like Receptor 9 constitutively traffics from the ER to the lysosome prior to stimulation with CpG DNA // *FASEB J.* – 2008. – Vol. 22. – P. 672–678.
33. *Akira S., Takeda K.* Toll-like receptor signaling // *Nat. Rev. Immunol.* – 2004. – Vol. 4 (7). – P. 499–511.
34. *Le Y., Murphy P. M., Wang J. M.* Formyl-peptide receptor revisited // *Trends Immunol.* – 2002. – Vol. 23 (11). – P. 541–548.
35. *Le Y., Wang J. M., Lin X.* et al. Biologically active peptides interacting with the G protein-coupled formylpeptide receptor // *Protein Pept. Lett.* – 2007. – Vol. 14 (9). – P. 846–853.
36. *Zhu P., Liu X., Trembl L. S.* et al. Mechanism and regulatory function of CpG signaling via scavenger receptor-B1 in primary B cells // *J. Biol. Chem.* – 2009. – Vol. 284 (34). – P. 22878–22887.
37. *Panaro M. A., Acquafredda A., Sisto M.* et al. Biological role of the N-formyl peptide receptors // *Immunopharm. Immunotoxicol.* – 2006. – Vol. 28 (1). – P. 103–127.
38. *Partida-Sanchez S., Cockayne D. A., Monard S.* et al. Cyclic ADP-ribose production by CD38 regulates intracellular calcium release, extracellular calcium influx and chemotaxis in neutrophils and is regulated for bacterial clearance *in vivo* // *Nat. Med.* – 2001. – Vol. 7. – P. 1209–1216.
39. *Crabtree G. R.* Generic signals and specific outcomes: signaling through Ca<sup>2+</sup>, calcineurin, and NF-AT // *Cell*. – 1999. – Vol. 96 (5). – P. 611–614.
40. *Berridge M. J.* The endoplasmic reticulum: a multifunctional signaling organelle // *Cell Calcium*. – 2002. – Vol. 32 (5–6). – P. 235–249.
41. *Oh-hora M., Rao A.* Calcium signaling in lymphocytes // *Cur. Opin. Immunol.* – 2008. – Vol. 20 (3). – P. 250–258.

42. Giambellica M. S., Gende O. A. Hydrogen peroxide activates calcium influx in human neutrophils // *Mol. Cell. Biochem.* – 2008. – Vol. 399 (1-2). – P. 151-156.
43. Yamakade M., Namiki A. Calcium channels – basic aspects of their structure, function and gene encoding: anesthetic action on the channels – a review // *Can. J. Anesth.* – 2002. – Vol. 49 (2). – P. 151-164.
44. Yang J., McBride S., Mak D.-O. D. et al. From the covering: identification of a family of calcium sensors as protein ligands of inositol trisphosphate receptor  $\text{Ca}^{2+}$  release channels // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2002. – Vol. 99 (11). – P. 7711-7716.
45. Zalk R., Lehnart S. E., Marks A. R. Modulation of the ryanodine receptor and intracellular calcium // *Annu. Rev. Biochem.* – 2007. – Vol. 76. – P. 367-385.
46. Wehrens X. H., Marks A. R. Novel therapeutic approaches for heart failure by normalizing calcium cycling // *Nat. Rev. Drug Discov.* – 2004. – Vol. 3 (7). – P. 565-573.
47. Choe C.-un, Ehrlich B. E. The inositol 1,4,5-trisphosphate receptor ( $\text{IP}_3\text{R}$ ) and its regulators: sometimes good and sometimes bad teamwork // *Sci. STKE.* – 2006. – Vol. 363. – P. p.re15.
48. Bezprozvanny I. The inositol 1,4,5-trisphosphate receptors // *Cell Calcium.* – 2005. – Vol. 38 (3-4). – P. 261-209.
49. Brailoiu E., Churamani D., Cai X. et al. Essential requirement for two-pore channel 1 in NAADP-mediated calcium signaling // *J. Cell. Biol.* – 2009. – Vol. 186 (2). – P. 201-209.
50. Messutat S., Heine M., Wicher D. Calcium-induced calcium release in neurosecretory insect neurons: fast and slow responses // *Cell Calcium.* – 2001. – Vol. 30 (3). – P. 199-211.
51. Roderick H. L., Berridge M. J., Bootman M. D. Calcium-induced calcium release // *Curr. Biol.* – 2003. – Vol. 13 (11). – P. R425.
52. Verkhratsky A. Physiology and pathophysiology of the calcium store in the endoplasmic reticulum of neurons // *Physiol. Rev.* – 2005. – Vol. 85 (1). – P. 201-279.
53. Foskett J. K., White C., Cheung K.-H., Mak D.-O. D. Inositol trisphosphate receptor  $\text{Ca}^{2+}$  release channel // *Physiol. Rev.* – 2007. – Vol. 87 (2). – P. 593-658.
54. Yamamoto K., Nakano M., Hashimoto K. et al. Emergence of a functional coupling between inositol-1,4,5-trisphosphate receptors and calcium channels in developing neocortical pyramidal neurons // *Neurosci.* – 2002. – Vol. 109 (4). – P. 677-685.
55. Higashida H., Hashii M., Yokoyama S. et al. Cyclic ADP-ribose as potential second messenger for neuronal  $\text{Ca}^{2+}$  signaling // *J. Neurochem.* – 2001. – Vol. 76 (2). – P. 321-331.
56. Pollock J., Crawford J. H., Wootton J. F. et al. A comparison between distinct inward currents activated in rat cultured DRG neurons by intracellular flash photolysis of two forms of caged cGMP // *Neurosci. Lett.* – 2003. – Vol. 338 (2). – P. 143-146.
57. Zhu M. X., Ma J., Parrington J. et al. Calcium signaling via two-pore channels: local or global, that is the question // *Am. J. Cell. Physiol.* – 2010. – Vol. 298. – P. C430-C441.
58. Somerville R. P. T., Oblander S. A., Apte S. S. Matrix metalloproteinases: old dog with new tricks // *Genome Biol.* – 2003. – Vol. 4 (6). – P. 216.
59. Sorsa T., Lindy O., Konttinen Y. T. et al. Doxycyclin in the protection of serum alpha-1-antitrypsin from human neutrophil collagenase and gelatinase // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 1993. – Vol. 37 (3). – P. 529-594.
60. Yang B., Yao D. F., Ochuchi M. et al. Ambroxol suppresses influenza-virus proliferation in the mouse airway by increasing antiviral factor levels // *Eur. Resp. J.* – 2002. – Vol. 19 (5). – P. 952-958.

61. Foyouzi-Youssefi R., Petersson F., Lew D. P. et al. Chemoattractant-induced respiratory burst: increases in cytosolic  $\text{Ca}^{2+}$  concentrations are essential and synergize with a kinetically distinct second signal // *Biochem. J.* — 1997. — Vol. 322 (Pt3). — P. 709–718.
62. Chuai S., Hu T., Liu J., Shen X. Regulation of the arachidonic acid-stimulated respiratory burst in neutrophils by intracellular and extracellular calcium // *Chin. Sci. Bull.* — 2001. — Vol. 46 (4). — P. 314–317.
63. Larsen E. C., DiGennaro J. A., Saito N. et al. Differential requirement for classic and novel PKC isoforms in respiratory burst and phagocytosis in RAW 264.7 cells // *J. Immunol.* — 2000. — Vol. 165 (5). — P. 2809–2817.
64. Snelgrove R. J., Edwards L., Rae A. J., Hussel T. An absence of reactive oxygen species improves the resolution of lung influenza infection // *Eur. J. Immunol.* — 2006. — Vol. 36 (6). — P. 1364–1373.
65. Aramburu J., Rao A., Klee C. Calcineurin: from structure to function // *Curr. Top Cell. Regul.* — 2000. — Vol. 36. — P. 237–295.
66. Rusnak F., Martz P. Calcineurin: form and function // *Physiol. Rev.* — 2000. — Vol. 80. — P. 1483–1521.
67. Kissinger C. R., Parge H. E., Knighton D. R. et al. Crystal structures of human calcineurin and the human FKBP12-FK506-calcineurin complex // *Nature.* — 1995. — Vol. 378 (6557). — P. 641–644.
68. Walker G., Kunz D., Pignat W. et al. Suppression by cyclosporine A of interleukin 1 beta-induced expression of group II phospholipase A2 in rat mesangial cells // *Br. J. Pharmacol.* — 1997. — Vol. 121 (4). — P. 787–793.
69. Huang Z.-F., Massey J. B., Via D. P. Differential regulation of cyclooxygenase-2 (COX-2) mRNA stability by interleukin-1 B (IL-1B) and tumor necrosis factor-A (TNF-A) in human *in vitro* differentiated macrophages — an essential regulator of NO-mediated apoptosis // *Biochem. Pharmacol.* — 2000. — Vol. 59 (2). — P. 187–194.
70. Schievella A. R., Regier M. K., Smith W. L., Lin L. L. Calcium-mediated translocation of cytosolic phospholipase A2 to the nuclear envelope and endoplasmic reticulum // *J. Biol. Chem.* — 1995. — Vol. 270 (51). — P. 30749–30754.
71. Cummings B. S., McHowat J., Schnellman R. G. Phospholipase A (2)s in cell injury and death // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* — 2000. — Vol. 294 (3). — P. 793–799.
72. Lee S. M., Cheung C. Y., Nicholls J. M. et al. Hyperinduction of cyclooxygenase-2-mediated proinflammatory cascade. — P. a mechanism for the pathogenesis of avian influenza H5N1 infection // *J. Infect. Dis.* — 2008. — Vol. 198 (4). — P. 525–535.
73. Cheung C. Y., Poon L. L., Lau A. S. et al. Induction of proinflammatory cytokines in human macrophages by influenza A (H5N1) viruses: mechanism for the unusual severity of human disease? // *Lancet.* — 2002. — Vol. 360 (9348). — P. 1831–1837.
74. Carey M. A., Bradbury J. A., Seubert J. M. et al. Contrasting effects of cyclooxygenase-1 (COX-1) and COX-2 deficiency on the host response to influenza A viral infection // *J. Immunol.* — 2005. — Vol. 175 (10). — P. 6878–6884.
75. Farooqui A. A., Yang H. C., Rosenberg T. A., Horrocks L. A. Phospholipase A2 and its role in brain tissue // *J. Neurochem.* — 1997. — Vol. 69 (3). — P. 889–901.
76. Toborek M., Malecki A., Garrido R. et al. Arachidonic acid-induced oxidative injury to cultured spinal cord neurons // *J. Neurochem.* — 1999. — Vol. 73 (2). — P. 684–692.
77. Scorrano L., Penzo D., Pertonilli V. et al. Arachidonic acid causes cell death through the mitochondrial permeability transition. Implications for tumor necrosis factor- $\alpha$  apoptotic signaling // *J. Biol. Chem.* — 2001. — Vol. 276 (15). — P. 12035–12040.

78. Gabriel B., Chalimoniuk M., Stolecka A. et al. Inhibition of arachidonic acid release by cytosolic phospholipase A2 is involved in the antiapoptotic effect of FK506 and cyclosporine A on astrocytes exposed to simulated ischemia *in vitro* // J. Pharmacol. Sci. – 2006. – Vol. 102 (1). – P. 77–87.

79. Kockskemper J., Sheehan K. A., Bare D. J. et al. Activation and propagation  $\text{Ca}^{2+}$  release during excitation-contraction coupling in atrial myocytes // Biophys. J. – 2001. – Vol. 81 (5). – P. 2590–2605.

80. Sheehan K. A., Blatter L. A. Regulation of junctional and nonjunctional sarcoplasmic reticulum calcium release in excitation-contraction coupling in cat atrial myocytes // J. Physiol. – 2003. – Vol. 546 (1). – P. 119–135.

81. Kann O., Kovacs R. Mitochondria and neuronal activity // Am. J. Physiol. Cell. Physiol. – 2007. – Vol. 292 (2). – P. C641–C657.

82. Frederiks W. M., Vreeling-Sindelarova H. Ultrastructural localization of xanthine oxidoreductase activity in isolated rat liver cells // Acta Histochem. – 2002. – Vol. 104 (1). – P. 29–37.

83. Linder N., Martelin E., Lapatto R., Raivio K. O. Posttranslation inactivation of human xanthine oxidoreductase by oxygen under standard cell culture conditions // Am. J. Physiol. Cell. Physiol. – 2003. – Vol. 285 (1). – P. C48–C55.

84. Brandes R. P., Koddenbery G., Gwinner W. et al. Role of increased production of superoxide anions by NAD (P)H oxidase and xanthine oxidase in prolonged endotoxemia // Hypertension. – 1999. – Vol. 33 (5). – P. 1243–1249.

85. Page S., Powell D., Benbouberta M. et al. Xanthine oxidoreductase in human mammary epithelial cells: activation in response to inflammatory cytokines // Biochim. Biophys. Acta. – 1998. – Vol. 1381 (2). – P. 191–202.

86. Spiekerman S., Landmesser U., Dikalov S. et al. Electron spin resonance characterization of vascular xanthine and NAD (P)H oxidase activity in patients with coronary artery disease: relation to endothelium-dependent vasodilation // Circulation. – 2003. – Vol. 107 (10). – P. 1383–1389.

87. Rouquette M., Page S., Bryant R. et al. Xanthine oxidoreductase is asymmetrically localized on the outer surface of human endothelial and epithelial cells in culture // FEBS Lett. – 1988. – Vol. 426 (3). – P. 397–401.

88. Jansson E. A., Huang L., Malkey R. et al. A mammalian functional nitrate reductase that regulates nitrite and nitric oxide homeostasis // Nat. Chem. Biol. – 2008. – Vol. 4. – P. 411–417.

89. Pacher P., Nivorozhkin A., Szabo C. Therapeutic effects of xanthine oxidase inhibitors: P. renaissance half century after discovery of allopurinol // Pharmacol. Rev. – 2006. – Vol. 58 (1). – P. 87–114.

90. George J., Struthers A. D. Role of urate, xanthine oxidase and the effects of allopurinol in vascular oxidative stress // Vascular Health Risk Management. – 2009. – Vol. 5 (1). – P. 265–272.

91. Dolganova A., Sharonov B. P. Application of various antioxidants in the treatment of influenza // Brazilian J. Med. Biol. Res. – 1997. – Vol. 3 (11). – P. 1333–1336.

92. Harris C. M., Massey V. The reaction of reduced xanthine dehydrogenase with molecular oxygen – reaction kinetics and measurement of superoxide radical // J. Biol. Chem. – 1997. – Vol. 272 (13). – P. 8370–8379.

93. Boueiz A., Damarla M., Hassoun P. M. Xanthine oxidoreductase in respiratory and cardiovascular disorders // Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. – 2008. – Vol. 294. – P. L830–L840.

94. Doel J. J., Godberg B. L. J., Eisenthal R., Harrison R. Reduction of organic nitrates catalyzed by xanthine oxidoreductase under anaerobic conditions // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2001. – Vol. 1527 (1-2). – P. 81–87.
95. Sawyer D. T. Oxygen complexes and oxygen activation by transition metals eds.: A. E. Martell, D. T. Sawyer. – N.-Y.; London: Plenum Press, 1988. – P. 131–147.
96. Владимиров Ю. А., Азизова О. А., Деев А. И. и др. Свободные радикалы в живых системах. Биофизика. (Итоги науки и техники ВИНТИ АН СССР). – М.: ВИНТИ, 1991. – № 29. – 252 с.
97. Янковский О. Ю. Токсичность кислорода и биологические системы (эволюционные, экологические и медико-биологические аспекты). – СПб.: Игра, 2000. – 294 с.
98. Morris C. J., Earl J. R., Trenam C. W. Reactive oxygen species and iron – a dangerous partnership in inflammation // *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* – 1995. – Vol. 27 (2). – P. 109–122.
99. Золотов Н. Н., Смирнов Л. Д., Кузьмина В. И. и др. Производные 3-оксипиридина как ингибиторы протеолитических ферментов // *Хим.-фарм. журнал.* – 1989. – Vol. 23 (2). – P. 133–135.
100. Клебанов Г. И., Любичкий О. Б., Ильина С. Е. и др. Антиоксидантная активность ингибиторов свободнорадикальных реакций, используемых в перевязочном материале для лечения ран // *Биол. мед. фарм. химия.* – 2006. – Vol. 52 (1). – P. 69–82.
101. Cooper R. G., Magwere T. Chloroquine: novel uses and manifestations // *Indian J. Med. Res.* – 2008. – Vol. 127 (4). – P. 305–316.
102. Centers for Disease Control and Prevention. Treatment for Malaria, Guidelines for Clinicians, 2006. – [http://www.cdc.gov/malaria/diagnosis\\_treatment/clinicians2.htm](http://www.cdc.gov/malaria/diagnosis_treatment/clinicians2.htm).
103. Meinao I. M., Sato E. I., Andrade L. E. C. et al. Controlled trial with chloroquine diphosphate in systemic lupus erythematosus // *Lupus.* – 1996. – Vol. 5 (3). – P. 237–241.
104. Augustijns P., Geusens P., Verbeke N. Chloroquine levels in blood during chronic treatment of patient with rheumatoid arthritis // *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 1992. – Vol. 42 (4). – P. 429–433.
105. Augustijns P., Verbeke N. Stereoselective pharmacokinetic properties of chloroquine and de-ethyl-chloroquine in humans // *Clin. Pharmacokinetic.* 1993. – Vol. 24 (3). – P. 259–269.
106. Addi A. Y., Gustafsson L. L., Ericsson O., Hellgren U. Handbook of drugs for tropical parasitic infections. – 2<sup>nd</sup> ed. – London: Taylor and Francis Ltd, 1995. – 181 p.
107. Solomon V. R., Lee H. Chloroquine and its analogs: a new promise of an old drug for effective and safe cancer therapies // *Eur. J. Pharmacol.* – 2009. – Vol. 625 (1-3). – P. 220–233.
108. Gonzalez M. A. Adding chloroquine to conventional treatment for glioblastoma multiforme // *Annu. Intern. Med.* – 2006. – Vol. 144 (5). – P. 337–343.
109. WO/2007/059372. Use of chloroquine to treat metabolic syndrome.
110. Karres I., Kremer J. P., Diel I. et al. Chloroquine inhibits proinflammatory cytokine release into human whole blood // *Am. J. Physiol.* – 1998. – Vol. 274 (4). – P. R1058–R1064.
111. Ohkuma S., Poole B. Fluorescence probe measurement of the intralysosomal pH in living cells and perturbation of pH by various agent // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1978. – Vol. 75 (7). – P. 3327–3331.



112. *Steiman R. M., Mellman I. S., Muller W. A. et al.* Endocytosis and the recycling of plasma membrane // *J. Cell. Biol.* – 1983. – Vol. 96 (1). – P. 1–27.
113. *Bishop N. E.* Examination of potential inhibitors of hepatitis A virus uncoating // *Intervirology.* – 1998. – Vol. 41 (6). – P. 261–271.
114. *Wang C., Takeuchi K., Pinto L. H., Lamb R. A.* Ion channel activity of influenza A virus M2 protein: characterization of the amantadine block // *J. Virol.* – 1993. – Vol. 67 (Pt 9). – P. 5585–5594.
115. *Schroeder C., Ford C. M., Wharton S. A., Hay A. J.* Functional reconstitution in lipid vesicles of influenza virus M2 protein expressed by baculovirus: evidence for proton transfer activity // *J. Gen. Virol.* – 1994. – Vol. 75 (Pt 12). – P. 3477–3484.
116. *Wharton S. A., Belshe R. B., Skehel J. J., Hay A. J.* Role of virion M2 protein in influenza virus uncoating: specific reduction in the rate of membrane fusion between virus and liposomes by amantadine // *J. Gen. Virol.* – 1994. – Vol. 75 (Pt 4). – P. 945–948.
117. *Miller D. K., Lenard J.* Antihistaminics, local anesthetics, and other amines as antiviral agents // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1981. – Vol. 78 (6). – P. 3605–3609.
118. *Di Train L., Savarino A., Campitelli L. et al.* Different pH requirements are associated with divergent inhibitory effects of chloroquine on human and avian influenza A viruses // *Viol. J.* – 2007. – Vol. 4. – P. 39.
119. *Yasuda H., Leelanavanichkul A., Tsunoda S. et al.* Chloroquine and inhibition of Toll-like receptor 9 protect from sepsis-induced acute kidney injury // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* – 2008. – Vol. 294 (5). – P. F1050–F1058.
120. *Ertel W., Morrison M. H., Ayala A., Chaudry I. H.* Chloroquine attenuates hemorrhagic shock-induced immunosuppression and decreases susceptibility to sepsis // *Arch. Surg.* – 1992. – Vol. 127 (1). – P. 75–76.
121. *Hong Z., Jiang Z., Liangxi W. et al.* Chloroquine protects mice from challenge with CpG ODN and LPS by decreasing proinflammatory cytokine release // *Int. Immunopharmacol.* – 2004. – Vol. 4 (2). – P. 223–234.
122. *Bondeson J., Sundler R.* Antimalarial drugs inhibit phospholipase A2 activation and induction of interleukin 1 beta and tumor necrosis factor alpha in macrophages: implications for their mode of action in rheumatoid arthritis // *Gen. Pharmacol.* – 1998. – Vol. 30 (3). – P. 357–366.
123. *Filippov A., Skatova G., Porotikov V. et al.* Ca<sup>2+</sup>-antagonistic properties of phospholipase A2 inhibitors, mepacrine and chloroquine // *Gen. Physiol. Biophys.* – 1989. – Vol. 8 (2). – P. 113–118.
124. *Loor F., Tiberghien F., Wenandy T. et al.* Cyclosporins: structure-activity relationship for the inhibition of the human FPR1 formylpeptide receptor // *J. Med. Chem.* – 2002. – Vol. 45 (21). – P. 4613–4628.
125. *Yan P., Nanamori M., Sun M. et al.* The immunosuppressant cyclosporin A antagonizes human formyl peptide receptor through inhibition of cognate ligand binding // *J. Immunol.* – 2006. – Vol. 177 (10). – P. 7050–7058.
126. *Huang H., Farley J.* PP1 inhibitors depolarize Hermisenda photoreceptors and reduce K<sup>+</sup> currents // *J. Neurophysiol.* – 2001. – Vol. 86 (3). – P. 1297–1311.
127. *Smaili S. S., Stellato K. A., Burnett P. et al.* Cyclosporin A inhibits inositol 1,4,5-trisphosphate-dependent Ca<sup>2+</sup> signals by enhancing Ca<sup>2+</sup> uptake into the endoplasmic reticulum and mitochondria // *Biol. Chem.* – 2001. – Vol. 276 (26). – P. 23329–23340.
128. *Snyder S. H., Sabatini D. M., Lai M. M. et al.* Neural action of immunophilin ligands // *Trends. Pharmacol. Sci.* – 1998. – Vol. 19 (1). – P. 21–26.

129. *Fan T.-P. D., Lewis G. P.* Mechanism of cyclosporine A-induced inhibition of prostacyclin synthesis by macrophages // *Prostaglandins*. — 1985. — Vol. 30 (5). — P. 735-747.
130. *Dalkara T., Yoshida T., Irikura K., Moskowitz M. A.* Dual role of nitric oxide in focal cerebral ischemia // *Neuropharmacol.* — 1994. — Vol. 33 (11). — P. 1447-1452.
131. *Dawson V. L., Kizushi V. M., Huang P. L.* et al. Resistance to neurotoxicity in cortical cultures from neuronal nitric oxide synthase-deficient mice // *J. Neurosci.* — 1996. — Vol. 16 (8). — P. 2479-2487.
132. *Diaz-Ruiz A., Vergana P., Perez-Severiano F.* et al. Cyclosporin-A inhibits constitutive nitric oxide synthase activity and neuronal and endothelial nitric oxide synthase expression after spinal injury in rats // *Neurochem.* — 2005. — Vol. 30 (2). — P. 245-251.
133. *Diaz-Ruiz A., Vergana P., Perez-Severiano F.* et al. Cyclosporin-A inhibits inducible nitric oxide synthase activity and expression after spinal cord injury in rats // *Neurosci. Lett.* — 2004. — Vol. 357 (1). — P. 49-52.
134. *Crompton M., Ellinger H., Costi A.* Inhibition by cyclosporin A of a  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent pore in heart mitochondria activated by inorganic phosphate and oxidative stress // *Biochem. J.* — 1988. — Vol. 255 (1). — P. 357-360.
135. *Bernardi P., Broekemeier K. M., Pfeiffer D. R.* Recent progress on regulation of the mitochondrial permeability transition pore: a cyclosporine-sensitive pore in the inner mitochondrial membrane // *J. Bioenerg. Biomembr.* — 1994. — Vol. 26 (5). — P. 509-517.
136. *Reddy P. V. B., Rao K. V. R., Norenberg M. D.* Inhibitors of the mitochondrial permeability transition reduce ammonia-induced cell swelling in cultured astrocytes // *J. Neurosci. Res.* — 2009. — Vol. 87 (12). — P. 2677-2685.
137. *Hatton J., Rosbolt B., Empey P.* et al. Dosing and safety of cyclosporine in patients with severe brain injury // *J. Neurosurg.* — 2008. — Vol. 109 (4). — P. 699-707.
138. *Kunsch C., Medford R. M.* Oxidative stress as a regulator of gene expression in the vasculature // *Circ. Res.* — 1999. — Vol. 85 (8). — P. 753-766.
139. *Hsu H. Y., Wen M. H.* Lipopolisaccharide-mediated reactive oxygen species and signal transduction in the regulation of Interleukin-1 gene expression // *J. Biol. Chem.* — 2002. — Vol. 277 (25). — P. 22131-22139.
140. *Ali M. H., Schlidt S. A., Chandel N. S.* et al. Endothelial permeability and IL-1 production during hypoxia: role of ROS in signal transduction // *Am. J. Physiol.* — 1999. — Vol. 277 (5). — P. L1057-L1065.
141. *DeFroge L. E., Preston A. M., Takeuchi E.* et al. Regulation of interleukin 8 gene expression by oxidant stress // *J. Biol. Chem.* — 1993. — Vol. 268 (34). — P. 25568-25576.
142. *Kawaguchi Y., Tanaka H., Okada T.* et al. The effects of ultraviolet A and reactive oxygen species on the mRNA expression of 72-kDa type IV collagenase and its tissue inhibitor in cultured human dermal fibroblasts // *Arch. Dermatol. Res.* — 1996. — Vol. 288 (1). — P. 39-44.
143. *Brenneisen P., Briviba K., Wlaschek M.* et al. Hydrogen peroxide ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) increases the steady-state mRNA levels of collagenase/MMP-1 in human dermal fibroblasts // *Free Radic. Biol. Med.* — 1997. — Vol. 22 (3). — P. 515-524.
144. *Morita-Fujimura Y., Fujimura M., Gasche Y.* et al. Overexpression of copper and zinc superoxide dismutase in transgenic mice prevents the induction and activation of matrix metalloproteinases after cold injury-induced brain trauma // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* — 2000. — Vol. 20 (1). — P. 130-138.

145. Schreck R., Albermann K., Baeuerle P. A. Nuclear factor kappa B: an oxidative stress-responsive transcription factor of eukaryotic cells // *Free Radic. Res. Commun.* – 1992. – Vol. 14 (4). – P. 221-237.
146. Schulze-Osthoff K., Los M., Baeuerle P. A. Redox signaling by transcription factor NF-kappa B and AP-1 in lymphocytes // *Biochem. Pharmacol.* – 1995. – Vol. 50 (6). – P. 735-741.
147. Gorlach A., Berchner-Pfannschmidt U., Wotzlaw C. et al. Reactive oxygen species modulate HIF-1 mediated PAI-1 expression: involvement of the GTPase Rac1 // *Thromb. Haemost.* – 2003. – Vol. 89 (5). – P. 926-935.
148. Bedogni B., Pani G., Colavitti R. et al. Redox regulation of cAMP-responsive element-binding protein and induction of manganous superoxide dismutase in nerve growth factor-dependent cell survival // *J. Biol. Chem.* – 2003. – Vol. 278 (19). – P. 16510-16519.
149. Landino L. M., Crews B. C., Timmons M. D. et al. Peroxynitrite, the coupling product of nitric oxide and superoxide, activates prostaglandin biosynthesis // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1996. – Vol. 93 (26). – P. 15069-15074.
150. Go Y. M., Patel R. P., Maland M. C. et al. Evidence for peroxynitrite as a signaling molecule in flow-dependent activation of c-Jun NH (2)-terminal kinase // *Am. J. Physiol.* – 1999. – Vol. 277 (4). – P. H1647-H1653.
151. Marnett L. J., Wright T. L., Crews B. C. et al. Regulation of prostaglandin biosynthesis by nitric oxide is revealed by targeted deletion of inducible nitric-oxide synthase // *J. Biol. Chem.* – 2000. – Vol. 275 (18). – P. 13427-13430.
152. Kang K. W., Choi S. H., Kim S. G. Peroxynitrite activates NF-E2-related factor 2/antioxidant response element through the pathway of phosphatidylinositol 3-kinase: The role of nitric oxide synthase in rat glutathione S-transferase A2 induction // *Nitric Oxide.* – 2002. – Vol. 7 (4). – P. 244-253.
153. Platt D. H., Bartoli M., El-Remessy A. B. et al. Peroxynitrite increases VEGF expression in vascular endothelial cells via STAT 3 // *Free Radic. Biol. Med.* – 2005. – Vol. 39 (10). – P. 1353-1361.
154. Saitoh M., Nishitoh H., Fujii M. et al. Mammalian thioredoxin is a direct inhibitor of apoptosis signal-regulating kinase (ASK)1 // *EMBO J.* – 1998. – Vol. 17 (9). – P. 2596-2606.
155. Matsuzawa A., Saegusa K., Noguchi T. et al. ROS-dependent activation of the TRAF6-ASK1-p38 pathway is selectively required for TLR4-mediated innate immunity // *Nat. Immunol.* – 2005. – Vol. 6 (6). – P. 587-592.
156. Бакулина Л. С. Фармакологическая коррекция проявлений оксидативного стресса при гнойно-воспалительных заболеваниях среднего уха (клинико-экспериментальное исследование): Дис. ... д-ра мед. наук. – СПб., 2002. – 259 с.
157. Плужников Н. Н., Чиж С. И., Юзвинкевич Л. С. и др. Оксидативный стресс. Фундаментальные и прикладные проблемы // *Актуальные проблемы и перспективы развития военной медицины: Научн. тр. НИИЦ (МБЗ) ГНИИИ ВМ МО РФ.* – Т. 2. – СПб., 2000. – С. 193-223.
158. Патент РФ № 2281092, 10.08.2006.
159. Патент РФ № 2167638, 27.03.2000.
160. Плужников Н. Н., Бакулина Л. С., Легеза В. И. и др. Некоторые аспекты антирадикальной защиты биомембран // *Актуальные проблемы и перспективы развития военной медицины: Научн. тр. НИИЦ (МБЗ) ГНИИИ ВМ МО РФ.* – Т. 4. – СПб., 2003. – С. 123-139.

161. Tesoriere L., Bongiorno A., Pintaudi A. M. et al. Synergistic interactions between vitamin A and vitamin E against lipid peroxidation in phosphatidylcholine liposomes // Arch. Biochem. Biophys. — 1996. — Vol. 326 (1). — P. 57–63.

162. El Attar T. M., Lin H. S. Effect of retinoids and carotenoids on prostaglandins formation by oral squamous carcinoma cells // Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids. — 1991. — Vol. 43 (3). — P. 175–178.

163. Redlich C. A., Rockwell S., Chung J. S. et al. Vitamin A inhibits radiation-induced pneumonitis in rats // J. Nutr. — 1998. — Vol. 128 (10). — P. 1661–1664.

164. Плужников Н. Н., Гаїдар Б. В., Ченур С. В. Редокс-регуляция: фундаментальные и прикладные проблемы // Актуальные проблемы и перспективы развития военной медицины: Научн. тр. НИИЦ (МБЗ) ГНИИИ ВМ МО РФ. — Т. 4. — СПб., 2003. — С. 139–173.

165. Kido H., Sakai K., Kishino Y., Tashiro M. Pulmonary surfactant is a potential endogenous inhibitor of proteolytic activation of Sendai virus and influenza virus // FEBS Lett. — 1993. — Vol. 322 (2). — P. 115–119.

166. Tashiro M., Beppu Y., Sakai K., Kido H. Inhibitory effect of pulmonary surfactant on Sendai virus infection in rat lungs // Arch. Virol. — 1996. — Vol. 141 (8). — P. 1571–1577.

167. Kido H., Okumura Y., Yamada H. et al. Secretory leukoprotease inhibitor and pulmonary surfactant serve as principal defenses against influenza A virus infection in the airway and chemical agents up-regulating their levels may have therapeutic potential // Biol. Chem. — 2004. — Vol. 385 (11). — P. 1029–1034.

168. Yang B., Yao D. F., Ohuchi M. et al. Ambroxol suppresses influenza-virus proliferation in the mouse airway by increasing antiviral factor levels // Eur. Res. J. — 2002. — Vol. 19 (5). — P. 952–958.

169. Gillissen A., Scharling B., Jaworska M. et al. Oxidant scavenger function of ambroxol *in vitro*: a comparison with N-acetyl-cysteine AC // Res. Exp. Med. (Berl.). — 1997. — Vol. 196 (6). — P. 389–398.

170. Gibbs B. F., Schmutzler W., Vollrath I. B. et al. Ambroxol inhibits the release of histamine, leukotriens and cytokines from human leukocytes and mast cells // Inflam. Res. — 1999. — Vol. 48 (2). — P. 86–93.

171. Beilharz M. W., Cummings J. M., Bennet A. L. Protection from lethal influenza virus challenge by oral type 1 interferon // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 2007. — Vol. 355 (3). — P. 740–744.

172. US Patent application 20080260690. Interferon in influenza. [www.faqs.org/patents/app/20080260690](http://www.faqs.org/patents/app/20080260690).

173. Радченко В. Г., Зиновьева Е. Н., Соловьева О. М. Побочные действия интерферонотерапии при лечении больных хроническими вирусными гепатитами. Актуальные вопросы внутренних болезней. — СПб., 2004. — С.29–44.

174. Патент РФ № 2132681.

175. Патент РФ № 2116788.

176. Van Etten E., Mathieu C. Immunoregulation by 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>. Basic concepts // J. Steroid. Biochem. Mol. Biol. — 2005. — Vol. 97 (1–2). — P. 93–101.

177. Schaubert J., Dorschner R. A., Coda A. B. et al. Injury enhances TLR2 function and antimicrobial peptide expression through a vitamin D dependent mechanism // J. Clin. Invest. — 2007. — Vol. 117 (3). — P. 803–811.

178. Wejse C., Gomes V. F., Rabna P. et al. Vitamin D as a supplementary treatment for tuberculosis: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial // Am. J. Respir. // Crit. Care Med. — 2009. — Vol. 179 (9). — P. 843–850.

- 
179. *Cannell J., Zaslhoff M., Garland C. F.* et al. On the epidemiology of influenza // *Virology*. — 2008. — Vol. 5. — P. 29. — doi.: 10.1186/1743-422x-5-29.
180. *Lai C. J., Markoff L. J., Sveda M. M.* et al. Genetic variation of influenza A viruses as studied by recombinant DNA techniques // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* — 1980. — Vol. 354. — P. 162-171.
181. *Kobasa D., Takada A., Shinya K.* et al. Enhanced virulence of influenza A viruses with the haemagglutinin of the 1918 pandemic virus // *Nature*. — 2004. — Vol. 431. — P. 703-707.
182. *Louria D. B., Blumenfeld H. L., Ellis J. T.* et al. Studies on influenza in the pandemic of 1957-1958. II. Pulmonary complications of influenza // *J. Clin. Invest.* — 1959. — Vol. 38 (1 Part2). — P. 213-265.
183. *Simonen L., Clarke M. J., Schonberger L. B.* et al. Pandemic versus epidemic influenza mortality: a pattern of changing age distribution // *J. Infect. Dis.* — 1998. — Vol. 178. — P. 53-60.
184. *Rello J., Pop-Vicas A.* Clinical review: primary influenza viral pneumonia // *Crit. Care*. — 2009. — Vol. 13. — P. 235. — doi.: 10.1186/cc8183.
185. *Rothberg M. L., Haessler S. D., Brown R. B.* Complication of viral influenza // *Am. J. Med.* 2008. — Vol. 121. — P. 258-264.
186. *Dushoff J., Plotkin J. B., Viboud C.* et al. Mortality due to influenza in the United States — an annualized regression approach using multiple-cause mortality data // *Am. J. Epidemiol.* — 2006. — Vol. 163 (2). — P. 181-187.
187. Influenza (Seasonal). World Health Organization. April. 2009. [www.who.int/mediacentre/factsheets/...index.html](http://www.who.int/mediacentre/factsheets/...index.html)
188. [www.who.int/mediacentre/factsheets/...index.html](http://www.who.int/mediacentre/factsheets/...index.html)
189. [www.euro.who.int/en/what-we-do/...influenza/pandemic-h1n1-2009](http://www.euro.who.int/en/what-we-do/...influenza/pandemic-h1n1-2009)

## ГЛАВА 4. ИПРИТ: НОВЫЕ ТРЮКИ СТАРОГО ПСА (ОБОСНОВАНИЕ ПОДХОДОВ К ТЕРАПИИ)

Иприт (сернистый иприт, горчичный газ, HD), или  $\beta, \beta_1$ -дихлордиэтилсульфид, был впервые получен лабораторным путем еще в 1822 г. химиком Дебре (С.-М. Despretz) при исследовании действия хлористой серы на этилен [1]. Весьма вероятно, что повторно аналогичное соединение было синтезировано (идентификации ни в первом, ни во втором случае не проводилось) также французским химиком Риче (А. Riche) в 1854 г. посредством действия хлора на сернистый этил [2]. По способу, использованному Дебре, иприт в очередной раз был синтезирован британским исследователем Гютри (F. Guthrie) и практически одновременно – германским химиком Ниманом (А. Niemann), несколько усовершенствованным способом, в 1860 году [3]. Этими же авторами впервые описаны органолептические свойства синтезированного соединения (F. Guthrie: «...smelling like mustard, tasting like garlic», т. е. «...пахнет как горчица, а на вкус как чеснок») и отмечена его способность прижигающе действовать на кожу, вызывая образование пузырей. В 1885 году Н. Д. Зелинским во время его работы в лаборатории Мейера (V. Meyer) в Геттингенском университете осуществлен синтез дихлордиэтилсульфида новым способом. Вновь полученное соединение (путем взаимодействия этиленхлоргидрина с сернистым натрием и последующей обработки продукта реакции хлористоводородной кислотой), в жидком виде попал на руки и ноги незадачливого практиканта (Н. Д. Зелинский, впоследствии действительный член Академии наук СССР), вызвало их поражение. В результате досадного инцидента русский экспериментатор не смог довести до конца разработку своего способа синтеза иприта [4]. Работу завершил В. Мейер в 1886 году. Он впервые получил иприт в чистом виде и подробно описал его физические, химические и токсические свойства. Поводом для тщательного исследования токсических свойств данного соединения, естественно, послужило кожное поражение, полученное русским химиком-практикантом [5].

Впервые в качестве боевого поражающего агента иприт применен войсками кайзеровской Германии в ночь с 12 на 13 июля 1917 года под бельгийским городом Ипр с целью сорвать наступление англо-французских войск. В результате поражения различной степени тяжести получили почти две с половиной тысячи человек, из которых 87 скончались. Всего в течение 1917–1918 гг. в боевых условиях использовано 12 000 тонн сернистого иприта, от которого пострадало около 400 000 человек. После окончания Первой мировой войны документально подтверждено применение иприта еще в одиннадцати военных конфликтах, включая боевые действия Британии против Красной армии в 1919 году, войну Италии против Абиссинии в 1936 году, Египта против Йемена в период 1963–1967 годов, Польши против Германии в 1939 году, Японии против Китая в 1937 году, Ирака против Ирана в 80-е годы прошлого столетия [6–8]. Несмотря на подписание в 1993 году под эгидой ООН Конвенции по химическому оружию [9], и в наше время по-прежнему сохраняется опасность возникновения очагов поражения ипритом в военных конфликтах [10, 11]. Актуализирует проблему ипритной патологии и угроза использования боевого отравляющего вещества в террористических целях [12–14].

Таким образом, токсические эффекты иприта известны в течение полутора столетий, проблема ипритной патологии актуальна со времен Первой мировой войны. Предпринимались и продолжают интенсивно проводиться никогда не прекращавшиеся широкомасштабные исследования различных аспектов физиологической активности данного токсиканта с целью изыскания средств профилактики и терапии поражений сернистым ипритом [15–30]. Предложено множество гипотез патогенеза цитотоксичности иприта, которые условно можно объединить в три группы:

- цитотоксические эффекты иприта как следствие энергодефицита;
- токсические эффекты иприта как результат нарушения тиол-кальциевого гомеостаза;
- цитотоксическое действие иприта как проявление оксидативного стресса, индуцированного алкилирующим токсикантом.

Гипотеза энергодефицита, предложенная Б. Папирмайстером в 1991 году [8], послужила мощным стимулом для углубленного изучения данного аспекта патобиохимии иприта [31–44]. Содержательная часть данной гипотезы патогенеза ипритных поражений в качестве ключевого события, инициирующего патобиохимический каскад, заканчивающийся гибелью клетки, рассматривает быстрое алкилирование азотистых оснований ДНК токсикантом. Сернистый иприт, располагая двумя хлорэтильными цепями, представляет собой бифункциональный алкилирующий агент. Поэтому он способен взаимодействовать не только с отдельными нуклеотидами, формируя моноаддукты 7-(2-гидроксиэтилтиоэтил)гуанин и 3-(2-гидроксиэтилтиоэтил)аденин, но и с двумя азотистыми основаниями одновременно, сшивая цепочки ДНК путем образования ди-(2-гуанин-7-ил-этил)сульфида [45]. В процессе репарации алкилированные пуриновые основания ДНК подвергаются энзиматической депуринизации, а в последующем апуриновые сайты расщепляются апуриновыми эндонуклеазами. Именно таким образом под влиянием иприта возникают разрывы цепочек ДНК. Повреждения ядерной ДНК ипритом имеют дозо- и времязависимый характер. Разрывы цепочек ДНК выступают в качестве стимула, активирующего внутриядерный репаративный фермент поли(АДФ-рибоза)-полимеразу (ПАРП), которая использует  $NAD^+$  в качестве субстрата в процессе АДФ-рибозилирования некоторых ядерных белков (гистонов). Интенсивный синтез полимерных цепей АДФ-рибозы может приводить к истощению пула внутриклеточного  $NAD^+$ . Уменьшение уровня  $NAD^+$  ниже критических показателей становится необратимым и заканчивается гибелью клетки. Дефицит  $NAD^+$  проявляется, в первую очередь, ингибированием аэробного гликолиза (подавлением синтеза макроэргов в митохондриях) и последующей стимуляцией активности  $NADP^+$ -зависимого гексозомонофосфатного шунта, что сопровождается увеличением в цитозоле уровня глюкозо-6-фосфата. Предполагается, что активирование гексозомонофосфатного пути окисления глюкозы в итоге результируется в стимуляции экспрессии и секреции поврежденными клетками протеиназ, участвующих в формировании типичной ипритной патологии.

При всей привлекательности гипотезы энергодефицита, системообразующую роль в которой играет  $NAD^+$ -ассоциированное расстройство энергопродукции в клетке, все же имеется целый ряд вопросов, на которые трудно найти приемлемые ответы, находясь в рамках данной модели патогенеза ипритной интоксикации:

- почему увеличение/поддержание уровня цитозольного  $\text{NAD}^+$  в кератиноцитах человека не блокирует цитотоксические эффекты иприта [46]?
- почему динамика уровня  $\text{NAD}^+$  в цитозоле кератиноцитов под влиянием иприта (снижение спустя 1–3 часа после воздействия токсического фактора) не соответствует динамике потребления  $\text{NAD}^+$  во внутриядерных репаративных процессах (утилизация  $\text{NAD}^+$  для синтеза полимерных цепей АДФ-рибозы заканчивается в течение полутора часов) [47]?
- почему критическое снижение уровня  $\text{NAD}^+$  в цитозоле клеток наблюдается лишь при концентрациях иприта, полностью ингибирующих активность внутриядерных репаративных энзимов [48]?

Еще раньше модели иприт-ассоциированного энергодефицита Б. Папирмайстера, в 1987 году С. Оррениусом и П. Никотера предложена гипотеза иприт-индуцированных нарушений тиол-кальциевого гомеостаза [49]. Согласно данной гипотезы, основными взаимосвязанными событиями, определяющими цитотоксические эффекты иприта, являются истощение пула внутриклеточных тиолов и возрастание уровня цитозольного  $\text{Ca}^{2+}$  до цитотоксических концентраций. Предполагается, что тиолы (глутатион и сульфгидрильные группы белков) подвергаются ковалентной модификации в реакциях взаимодействия с прооксидантами и электрофильными соединениями. К числу таких электрофильных соединений относится и сернистый иприт, способный резко понизить уровень глутатиона в цитозоле клеток. Иприт способен вступать в химическое взаимодействие и непосредственно с SH-группами белковых молекул. К числу функциональных белков, энзиматическая активность которых ингибируется ипритом в результате его взаимодействия с SH-группами остатков аминокислоты цистеин, относятся и  $\text{Ca}^{2+}$ -транслоказы ( $\text{Ca}^{2+}$ -АТФ-азы). Ингибирование активности  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФ-аз с неизбежностью ведет к увеличению уровня цитозольного ионизированного кальция и, как следствие, активации  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимых катаболических процессов, включая стимуляцию активности протеиназ, эндонуклеаз и фосфолипаз. Кальций-ассоциированные повреждения цитоскелета, генома, клеточных мембран, по отдельности и тем более в комплексе, обрекают клетку на гибель.

В качестве основного аргумента против нарушений тиол-кальциевого гомеостаза как лидирующего патогенетического механизма формирования цитотоксических эффектов иприта выдвигается соображение о явном несоответствии между временем наступления иприт-индуцированного истощения пула внутриклеточных тиолов и временем проявления первых признаков ипритного поражения. По-видимому, имеются и другие патобиохимические процессы, инициирующие каскады событий, проявляющиеся эффектами цитотоксичности.

Гипотеза оксидативного стресса при ипритной интоксикации рассматривает истощение пула цитозольного глутатиона как основную причину интенсификации процессов неферментативного окисления в клетках, ведущих к повреждению биомакромолекул и, в конечном итоге, к гибели. Изначально основанием для формирования подобных представлений послужило то, что действие сернистого иприта на живые системы по многим показателям сходно с биологическими эффектами ионизирующих излучений, повреждающее действие которых обусловлено появлением свободных радикалов [50, 51]. Серьезным стимулом для изучения свободнорадикальных процессов при ипритной патологии послужило выявление способности аналогов ипритной молекулы в водных



растворах претерпевать спонтанную внутримолекулярную перестройку с образованием реакционно-способных оний-катионов [52]. По современным представлениям, при взаимодействии нуклеофильного центра молекулы иприта (содержащего атом серы, который без потери физиологической активности может быть заменен на атом азота либо селена) с ее галогенированной алифатической частью, происходит внутримолекулярная циклизация с образованием реакционно-способного оний-катиона (сульфоний-катиона) [53]. Здесь уместно указать на то, что ониевые производные сернистого иприта не относятся к свободным радикалам, но могут становиться таковыми при определенных условиях. Дальнейшее развитие гипотеза оксидативного стресса получила именно в концепции свободнорадикального алкилирования. Сущность данной концепции заключается в том, что оний-катион, взаимодействуя с различными флавопротеиновыми редуктазами (NADPH-цитохром P-450-редуктаза, редуктазный домен NOS, тиоредоксин-редуктаза), способен подвергаться одноэлектронному восстановлению, становясь углерод-центрированным радикалом электронейтрального характера, обладающего еще большей реакционной способностью в сравнении с оний-катионом [54–56].

Правомерность представлений о генерировании углерод-центрированных свободных радикалов в процессе одноэлектронного восстановления оний-катионов иприта косвенно подтверждается и рядом ранее выполненных работ. В частности, ингибирование редуктазного домена синтазы оксида азота дозозависимым образом нивелировало цитотоксические эффекты иприта [57–59].

Ни одна из существующих теорий патогенеза ипритной патологии не только не объясняет всего спектра токсических эффектов сернистого иприта, но даже не в состоянии приемлемым образом объяснить видимое невооруженным глазом противоречие, заключающееся в том, что первичные патобиохимические реакции с участием сернистого иприта в клетках осуществляются с высокой скоростью, а клинические проявления повреждения тканей регистрируются после скрытого периода длительностью от десятков минут до десятков часов [60]. Вероятно, каждая из рассмотренных гипотез отражает лишь один, по-видимому, не самый весомый или вторичный аспект патобиохимии токсиканта. Следствием такой «безыдейности» и «теоретической несостоятельности» является отсутствие профилактических, лечебных антидотов, эффективных средств патогенетической терапии и стандартизованных методов лечения [23]. Общепринятое мнение: механизм токсического действия сернистого иприта, к сожалению, до сих пор не установлен [23, 26, 56].

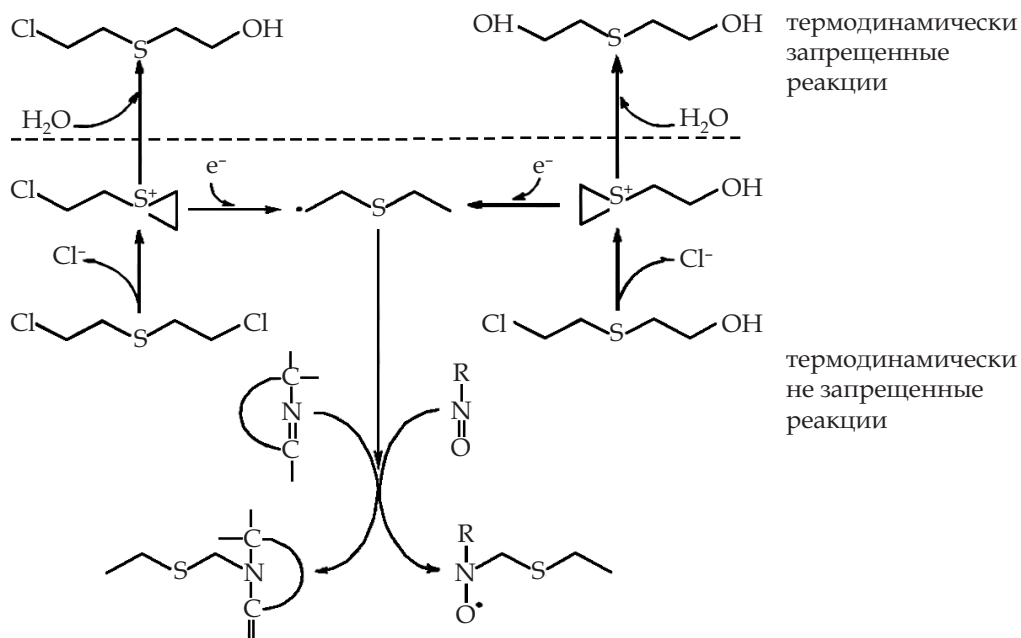
В связи с этим нам представляется целесообразным обратить внимание на эффекты сернистого иприта, связанные с митохондриями. Будучи липотропным, плохо растворимым в воде соединением, сернистый иприт способен преодолевать биологические барьеры, липидный бислой плазматических мембран [61], быстро подвергаясь в цитозоле клеток спонтанной трансформации в оний-катион (сульфоний-катион) [30, 53, 56]. Сульфоний-катион, как электрофильный интермедиат начального этапа гидролиза иприта, способен взаимодействовать с нуклеофильными группировками биомакромолекул [53]. Сохраняя липофильность и обладая свойствами катиона, сульфоний-катион приобретает, подобно другим липофильным катионам (ионы Скулачева) [62–64], повышенную тропность к митохондриям в силу наличия градиента электрического поля на внутренней мембране данных органелл. «Положительно» заряженные

липофильные соединения избирательно накапливаются в 2-нм толще внутренней митохондриальной мембраны [64], так как данные органеллы представляют собой единственный «отрицательно» заряженный компартмент в цитозоле живой клетки [64–66].

У критически настроенного читателя могут возникнуть сомнения в достоверности вышеизложенного. Действительно, если допустить, что электрические заряды равномерно распределены по матриксной («отрицательный» заряд) и внешней («положительный» заряд) поверхностям внутренней митохондриальной мембраны, то должен существовать термодинамический запрет на движение любых катионов (включая ионы  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ) в сторону внутренней митохондриальной мембраны. Но в реальности такого запрета не возникает в результате того, что протоны в гидратированной форме ( $[\text{H}_2\text{O}\cdots\text{H}\cdots\text{OH}_2]^+$  [178]) распределены по всему объему межмембранного пространства митохондрий. Следует заметить, что повышенные концентрации протонов (могут почти на порядок превосходить уровень в цитозоле [67, 68]), смещая значения величины рН содержимого межмембранного пространства в сторону кислотных показателей, накладывают термодинамический запрет на протекание реакции гидролиза иприта далее начального этапа, т. е. стабилизируют сульфоний-катион. Примером тропности катионов к наружной поверхности внутренней митохондриальной мембраны может служить природа сил, фиксирующих на ней один из переносчиков электронов — цитохром С. Цитохром С, обладая катионными группировками, удерживается (не теряя способности перемещаться по поверхности) за счет сил электростатического притяжения к анионным группировкам кардиолипина — основного фосфолипиды наружного монослоя внутренней митохондриальной мембраны. К этому следует добавить, что молекулы иприта могут трансформироваться в ониевую форму и после их проникновения через внешнюю митохондриальную мембрану, т. е. уже находясь в межмембранном пространстве.

Вездесущие пиридин-зависимые флавиновые оксидоредуктазы, такие как NADPH-цитохром P450-редуктаза [69], редуктазный домен различных изоформ синтазы оксида азота [70], цитозольная тиоредоксин-дисульфид-редуктаза [71] и другие оксидоредуктазы [72], могут служить в качестве эффективных источников электронов для одноэлектронного восстановления сульфоний-катионов [56]. Избирательно накапливаясь в толще внутренней митохондриальной мембраны, в силу градиента электрического поля, электрофильные ониий-катионы, естественно, могут контактировать с компонентами электронтранспортных цепей. Электронтранспортная цепь внутренней мембраны митохондрий, как система структурно-функционально связанных трансмембранных белков и переносчиков электронов, в качестве основного функционального элемента комплекса I включает NADH-дегидрогеназу — типичный представитель флавинозависимых (содержит FMN) оксидоредуктаз [73, 74]. Восстановительная трансформация сульфоний-катионов на комплексе I в высоко реакционно-способные углерод-центрированные свободные радикалы, по-нашему мнению, предопределяет возникновение дисфункции митохондрий при ипритной интоксикации и, в значительной степени, своеобразии ипритной патологии. Наиболее патогенетически значимо алкилирование белковых компонент различных каналов, переносчиков, обменников, кальциевых АТФ-аз и комплексов транспорта электронов внутренней митохондриальной мембраны. Все это неизбежно

ведет к снижению трансмембранного потенциала митохондрий (в итоге — к деэнергизации клетки), перегрузке матрикса митохондрий ионами кальция, стимуляции активности  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимой митохондриальной NO-синтазы и, как следствие, гиперпродукции  $\text{NO}^\bullet$  и  $\text{ONNO}^-$ , формированию митохондриальной поры транзитной проницаемости, выделению внутримитохондриального содержимого в цитозоль и к некротической гибели клетки (цитолизу).



Для более детального обоснования предлагаемой модели (концепции) патогенеза ипритной патологии следует подробнее проанализировать потенциальную роль митохондрий в формировании проявлений ипритного поражения. Иприт-индуцированный цитоллиз — неконтролируемое разрушение клеток и находящихся в них митохондрий. Каждая эукариотическая клетка в качестве цитозольных органелл содержит от нескольких сотен до нескольких тысяч образований данного типа [75, 76]. Митохондрии — внутриклеточные органеллы, являющиеся потомками древних эндосимбионтных бактерий [77], несущие родовые признаки граммотрицательных прокариот. В частности, митохондриальная ДНК, как и ДНК бактерий, имеет неметилированные последовательно расположенные азотистые основания цитозин и гуанин (CpG-последовательности) [78]. В отличие от этого, в геноме эукариот цитозин CpG-динуклеотидов обычно метилирован [79]. Появление в биосредах организма млекопитающих фрагментов бактериальной ДНК, имеющих неметилированные CpG-последовательности, распознается рецепторами TLR9 (локализованы в лизосомах [80, 81]) полиморфноядерных нейтрофилов, воспринимается как присутствие (инвазия) бактерий и сопровождается их активированием [82]. Активирование нейтрофилов фрагментами митохондриальной (бактериальной) ДНК проявляется стимуляцией экспрессии провоспалительных медиаторов [83, 84].

Другим структурным компонентом матрикса митохондрий, не встречающимся в физиологических условиях в цитозоле эукариотических клеток

и биосредах многоклеточных организмов, которые характерны только для бактерий, являются формил-пептиды. Трансляция (синтез белков) в митохондриях, как и у прокариот, всегда начинается с особой, модифицированной аминокислоты — N-формилметионина. Эукариотическими клетками эта аминокислота при синтезе полипептидных цепей не используется, поэтому наличие N-формилметионина на конце полипептидной цепи — надежный индикатор присутствия (инвазии) бактерий. N-формилпептиды распознаются цитозольным рецептором FPR1 (Formyl Peptide Receptor 1 — FPR1) клеток иммунной системы (нейтрофилов), что также резко стимулирует их активность [85, 86].

Взаимодействие неметилованных CpG-содержащих фрагментов митохондриальной ДНК и формил-пептидов с рецепторами TLR9 и FPR1 соответственно сопровождается активированием фосфолипазы C (PLC<sub>3</sub>), циклазы/гидролазы АДФ-рибозы и, как следствие, возрастанием в цитозоле нейтрофилов содержания таких вторичных мессенджеров, как инозитол-1,4,5-трифосфат (Ins3P) и циклическая АДФ-рибоза (сADPR) [87–89]. Такая динамика Ins3P и сADPR обуславливает увеличение уровня ионов кальция в цитозоле фагоцитов [78, 90].

Относительно небольшое количество кальция («запальный» пул), проникшего в цитозоль клетки через рецептор-зависимые и плазмомембранные кальциевые каналы, амплифицируется выделением внутриклеточного Ca<sup>2+</sup> из цистерн эндоплазматического ретикулума. Кальций из эндоплазматических цистерн может мобилизовываться через локализованные в эндомембранах различные типы Ca<sup>2+</sup>-каналов: рианадиновые рецепторы RyRs (Ryanodine Receptors — RyRs), инозитол-1,4,5-трифосфат-чувствительные рецепторы Ins3PRs (Inositol 1,4,5-trisphosphate Receptors — Ins3PRs) и NAADP-зависимые рецепторы эндосом и лизосом NAADPRs (Nicotinic Acid Adenine Dinucleotide Phosphate Receptors — NAADPRs) [91–96]. В отличие от Ins3PRs и NAADPRs, стимулируемых специфическими лигандами — инозитол-1,4,5-трифосфатом и фосфатом адениндинуклеотида никотиновой кислоты, соответственно, рианадиновые рецепторы переходят в открытое состояние под влиянием ионов кальция, выполняющих роль сигнальной субстанции [97, 98]. Ионизированный кальций, при положительной динамике уровня данного двухвалентного катиона в цитозоле клеток, активируя RyRs, усиливает «запальный» пул сигнального катиона. В протекании процесса стимуляции полиморфноядерных нейтрофилов значимо, что эффективность инозитол-1,4,5-трифосфата, как лиганда Ins3PRs, также зависит от уровня Ca<sup>2+</sup> в цитозоле клетки [99, 100]. Под влиянием ионов кальция Ins3PRs сенситизируются к воздействию инозитол-1,4,5-трифосфата [101] и при достижении определенной концентрации Ca<sup>2+</sup> в цитозоле Ins3PRs могут переходить в открытое состояние даже в условиях фонового содержания Ins3P в клетке [99]. В свою очередь, состояние RyRs контролируется (сенситизируются) циклической АДФ-рибозой [102, 103]. В отличие от RyRs и Ins3PRs, функциональное состояние NAADPRs не зависит от уровня ионизированного кальция в цитозоле [104]. В условиях иприт-индуцированного цитолиза, вероятно, «запальный» пул Ca<sup>2+</sup> из эндосом/лизосом (после взаимодействия формил-пептидов и неметилованных CpG-содержащих фрагментов митохондриальной ДНК с соответствующими патоген-распознающими рецепторами), посредством стимуляции RyRs и сенситизации Ins3PRs, обеспечивает увеличение уровня ионизированного кальция в цитозоле полиморфноядерных нейтрофилов.

Повышение уровня цитозольного  $\text{Ca}^{2+}$  сопровождается стимуляцией активности фагоцитов [78, 90]. Активирование полиморфноядерных нейтрофилов при массивном цитолизе опосредуется кальцинейрином — серин-треониновой фосфатазой, приобретающей фосфатазную активность под влиянием  $\text{Ca}^{2+}$ /кальмодулина [105, 106], обеспечивающего экспонирование активного центра каталитического домена энзима [107], и кальцийзависимыми киназами, трансформирующими ядерные факторы транскрипции в их активные формы [108–111]. Активация ядерных факторов транскрипции (AP-1, NF-AT, NF- $\kappa$ B, IRF3) сопровождается стимуляцией экспрессии:

- провоспалительных цитокинов (IL-1, IL-6, IL-10, IL-12, TNF,  $\text{IFN}\gamma$ ,  $\text{IFN}\beta$ ), что проявляется гипертермией, тахипноэ, тахикардией, неврологической симптоматикой и повреждением эндотелия сосудов;
- хемокинов (IL-8, MIP-1/2, MCP-1/2), стимулирующих миграционную активность нейтрофилов и продукцию прооксидантов макрофагами;
- молекул адгезии (ICAM-1, VCAM-1, E-selectin), способствующих увеличению проницаемости эндотелиальной выстилки сосудов;
- факторов коагуляции (TF, PAI-1, Factor VIII), формирующие ДВС-синдром;
- индуцибельной изоформы NO-синтазы, что сопровождается гиперпродукцией оксида азота и проявляется дисфункцией кардиоваскулярной системы.

Кроме того, стимулированные формил-пептидами и фрагментами митохондриальной ДНК, полиморфноядерные нейтрофилы обильно секретируют матриксные металлопротеиназы (MMP-8, MMP-10), субстратами которых являются биополимеры внеклеточного матрикса и ингибиторы секреторных протеиназ [112–114]. Активированные фагоциты в пессимальном количестве генерируют прооксиданты, повреждающие структурные элементы сосудов и тканей [115].

Провоспалительные цитокины, в свою очередь, стимулируют синтез *de novo* фосфолипазы A2 (PLA2) и циклооксигеназы 2 (COX-2) (под влиянием IL-1, TNF $\alpha$  уровень COX-2 мРНК увеличивается в 40 раз) [116, 117]. В условиях повышенного уровня цитозольного кальция фосфолипаза A2 транслоцируется к внутриклеточным мембранам и селективно расщепляет фосфолипиды, в состав которых входит арахидоновая кислота [71, 72]. Арахидоновая кислота, выделяемая фосфолипазой A2 из sn-2 позиции фосфолипидов, цикло- и липоксигеназами быстро трансформируется в эйкозаноиды и свободнорадикальные продукты, способные в условиях воспалительной реакции оказывать выраженное повреждающее действие на клетки и ткани [120, 121]. Кроме того, арахидоновая кислота — ключевой патогенетический фактор разобщения окисления и фосфорилирования в митохондриях, набухания митохондрий и формирования митохондриальной поры транзитной проницаемости с выделением проапоптотических факторов [122, 123].

В протекании иприт-индуцированной воспалительной реакции значимую роль, по-видимому, играет ксантиноксидоредуктаза. Нам не встретилось развернутых исследований по данной проблеме, но резкое увеличение уровня мочевой кислоты в плазме крови и моче уже через несколько часов после контакта с алкилирующим агентом [124] побуждает обратить внимание на проблему катаболизма пуринов при ипритной патологии. Ксантиноксидоредуктаза — цитозольный фермент [125], экспрессия которого резко стимулируется под влиянием

гипоксии [126] и провоспалительных цитокинов [127, 128]. В патофизиологических условиях ксантиноксидоредуктаза выделяется из клеток в кровь (преобладает оксидазная форма фермента [129]) и фиксируется на плазматической мембране эндотелиоцитов посредством физико-химического взаимодействия с гликозаминогликанами [130]. Ксантиноксидоредуктаза, локализованная на цитоплазматической мембране эндотелиоцитов в зоне иприт-индуцированного воспаления, в процессе окисления пуринов способна продуцировать супероксидный анион-радикал и одновременно может восстанавливать на другом активном сайте нитрит- и нитрат-анионы (как и пурины, поступающие, главным образом, из локуса токсической альтерации) до оксида азота ( $\text{NO}^*$ ) [131], т. е. рециклировать данный вазодилатирующий агент. Продукция прооксидантов ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{NO}^*$ ,  $\text{ONOO}^-$ ) ксантиноксидоредуктазой потенциально опасна, поскольку в итоге может приводить к повреждению эндотелиальной выстилки сосудов, экстравазации жидкости из циркуляторного русла, неблагоприятным изменениям со стороны свертывающей системы крови и неконтролируемой вазодилатации. Попытка использования ингибитора ксантиноксидоредуктазы аллопуринола (аллопуринол — неметаболизируемый изомер гипоксантина, конкурентно ингибирующий окислительную трансформацию гипоксантина и ксантина на молибдоптерин-содержащем сайте энзима [132, 133]) в качестве терапевтического средства при воспалении в диапазоне суточных доз 5–50 мг/кг не увенчалась успехом [134]. Отсутствие терапевтического эффекта в данном случае легко объясняется тем, что при ингибировании (Mo-Co)-содержащего центра фермента сохраняется NADH-оксидазная и нитрит-, нитрат-редуктазная активности ксантиноксидоредуктазы, реализуемые на FAD-зависимом домене энзима [135–137]. Наличие флавинового кофактора в редуктазном домене фермента, помимо прочего, может обеспечивать восстановление сульфоний-катионов до углерод-центрированных радикалов иприта (резорбция иприта в кровь из зоны поражения продолжается многие часы и даже сутки [138]). Выраженные изменения микроциркуляторного ложа дермы в зоне аппликации алкилирующего агента [139], наверное, в определенной степени, обусловлены повреждающими факторами, ассоциированными с ксантиноксидоредуктазой.

Супероксидный анион-радикал в отношении органических и неорганических химических соединений, в зависимости от их химической природы, способен играть роль как окислителя ( $E^0 \text{O}_2^{\cdot-}/\text{H}_2\text{O}_2 = +0,89 \text{ В}$ ), так и восстановителя ( $E^0 \text{O}_2/\text{O}_2^{\cdot-} = -0,33 \text{ В}$ ), индуцируя их редокс-трансформацию [140]. Восстановительные свойства супероксид-радикала, продуцируемого в пессимальном количестве при иприт-ассоциированной воспалительной реакции, реализуются, в частности, в восстановительном высвобождении ионов железа из их комплексов с биомакромолекулами. Например, в составе трансферрина и ферритина железо представлено только в форме ионов  $\text{Fe}^{3+}$ , которые под влиянием супероксидного анион-радикала восстанавливаются до  $\text{Fe}^{2+}$  и покидают указанные выше биоккомплексоны [141, 142]. В присутствии свободных ионов железа и частично восстановленных форм кислорода формируется своеобразный «реактор» редокс-катаболической продукции прооксидантов и, в частности, чрезвычайно токсичного гидроксильного радикала [143]. Это крайне опасное, в силу интенсификации оксидативного стресса, состояние биологической системы, ведущее к ее деструкции. Удаление свободных ионов железа из биосред организма — вопрос чрезвычайной значимости при ипритной интоксикации.

Накапливаются данные о том, что повреждение тканей сернистым ипритом — результат не только прямого алкилирующего действия токсиканта, но также и следствие активирования резидентных и нерезидентных макрофагов, проявляющееся в неконтролируемой секреции медиаторов, усугубляющих повреждение [144]. В качестве патогенетически значимого механизма формирования клинических проявлений ипритной патологии, по-видимому, выступает иприт-ассоциированная стимуляция экспрессии фактора ингибирования миграции макрофагов (MIF) [145]. MIF способны продуцировать многие типы клеточных линий, включая эпителиоциты кожи [146]. Активирующее воздействие на продукцию MIF оказывают провоспалительные цитокины ( $TNF\alpha$ ,  $IFN-\gamma$ ,  $C5a$ ), что проявляется подавлением экспрессии противовоспалительных медиаторов [147, 148]. Кроме того, и это может быть наиболее значимым, провоспалительные эффекты MIF обусловлены и его способностью блокировать индуцируемый респираторным взрывом апоптоз (зависимый от белка p-53) фагоцитирующих клеток (нейтрофилов, эозинофилов, макрофагов). То есть MIF обеспечивает поддержание жизнеспособности и длительную функциональную гиперактивность (продукция прооксидантов и медиаторов воспаления) стимулированных макрофагов [149].

HMGB1 (High Mobility Group Box-1 protein) ранее рассматривался только как фактор транскрипции [150]. В настоящее время данный протеин хроматина ядра, выделяющийся во внеклеточное пространство при разрушении клеток (при некрозе) [151–153], привлекает внимание как атипичный медиатор воспаления. Относительно ипритной патологии значимо, что активированные клетки иммунной системы обильно секретирова HMGB1, инициируют вторую фазу воспалительной реакции посредством стимуляции продукции провоспалительных цитокинов [151, 154]. Оценивая вклад HMGB1 в генез симптомокомплекса проявлений ипритной интоксикации следует учитывать:

- клетки иммунной системы под влиянием внешних стимулов способны секретировать HMGB1 во внеклеточную среду, где данный полипептид проявляет свойства провоспалительного цитокина [155–158];
- HMGB1 может выделяться в интерстициальную среду пассивно при разрушении (при некрозе) клеток различных тканей [159–161], либо активно секретироваться макрофагами и нейтрофилами [162–166];
- появление в экстрацеллюлярном пространстве HMGB1 воспринимается иммунной системой как сигнал повреждения тканей, т. е. HMGB1 играет роль «маркера некроза» [155, 157];
- помимо макрофагов, HMGB1 может обильно секретироваться эпителиоцитами под влиянием провоспалительных цитокинов ( $TNF-\alpha$ ,  $IL-1\beta$ ,  $IFN-\gamma$ ) [167];
- митохондриальные антигены (CpG-содержащие фрагменты ДНК, N-формил пептиды) в присутствии других антигенов (митохондриального фактора транскрипции A-TFAM) проявляют свойства мощных индукторов экспрессии HMGB1 моноцитами [168, 169];
- прооксиданты (пероксид водорода) усиливают секрецию HMGB1 макрофагами и моноцитами [170];
- при тяжелых тканевых повреждениях и инфекциях внеклеточный HMGB1 стимулирует эндотелиоциты экспрессировать молекулы адгезии и активатор плазминогена тканевого типа [171, 172], что ведет к нарушению

барьерной целостности эндотелиальной выстилки сосудов, экстравазации жидкой части крови, бактериальной транслокации и тканевой гипоперфузии [171–173];

- HMGB1, продуцируемый эпителиальными клетками, обладает мощным антибактериальным эффектом [174];
- в отличие от цитокинов «раннего» провоспалительного ответа, HMGB1 секретируется макрофагами спустя два десятка часов после их стимуляции [164–166];
- ингибиторы секреции HMGB1, соединения блокирующие каталитическую активность HMGB1 способны эффективно купировать проявления воспалительной реакции [175, 176].

Предложенная модель (концепция) патогенеза ипритных поражений призвана пролить свет на лидирующие патофизиохимические реакции и процессы, протекающие на разных уровнях организации живой системы при воздействии алкилирующего агента, запускающих каскады событий, проявляющихся характерными токсическими эффектами. Здесь, по-видимому, уместно вспомнить слова Учителя, профессора М. Н. Линючева: «Объяснить можно все. Другое дело — соответствие объяснения действительности». В связи с этим в одной из работ [177], касающейся вопроса оценки степени соответствия вновь предлагаемой модели патологического процесса реально существующему положению вещей, перечислены качества, которыми должна отличаться такая теоретическая конструкция, претендующая на адекватность:

- отсутствие внутренних противоречий;
- наличие гностического потенциала;
- обладание прогностической значимостью.

Применительно к сернистому иприту давно замечено, что одной из характерных особенностей патологического процесса при воздействии токсиканта на кожу является отсутствие болевой чувствительности (несмотря на воспалительно-деструктивный характер патологии) в зоне аппликации отравляющего вещества при наличии ощущения зуда [3–5, 179, 180]. Болевая чувствительность обычно увеличивается только через 5–6 дней после контакта с ипритом [181, 182]. Механизм формирования данной феноменологии, ранее не имевшей приемлемого объяснения, можно раскрыть в рамках предлагаемой концепции патогенеза ипритной интоксикации, учитывая:

- при кожной аппликации иприта [183], как и при травмах [184], инфекции [185], тучные клетки способны претерпевать дегрануляцию, по-видимому, под влиянием митохондриальных (бактериальных) антигенов;
- в качестве возможных медиаторов зуда рассматриваются биогенные амины (гистамин, серотонин), кинины (брадикинин), цитокины (IL-I, IL-II, FNO-α и др.) и пептиды (субстанция P) [186], многие из которых секретируются при дегрануляции тучных клеток [187];
- болевая чувствительность кожного покрова обеспечивается миелинизированными нервными волокнами, а нервные импульсы, участвующие в формировании чувства зуда, передаются в центральную нервную систему, преимущественно, по безмиелиновым, медленно проводящим C-волокам [188];
- швановские клетки (леммоциты) миелинизированных нервных проводников отличаются высокой NO-синтазной активностью (по-видимому,



ассоциированной с митохондриями) [177], что делает их более уязвимыми относительно алкилирующего действия иприта в сравнении с безмиелиновыми С-волоконками; иприт-ассоциированная ковалентная модификация ионных каналов миелинизированных нервных проводников (подобно обратимым эффектам новокаина) проявляется нарушением проведения болевых импульсов (на фоне относительно физиологического функционирования безмиелиновых С-проводников);

- восстановление способности миелинизированных нервных волокон проводить нервные импульсы может быть обеспечено только путем синтеза *de novo* структурных компонент цитоплазматической мембраны отростка нервной клетки, на что требуется до 5–6 суток.

При кожных поражениях ипритом развивается выраженная воспалительная реакция, проявляющаяся на локальном (гиперемия, постоянно увеличивающаяся массивная лейкоцитарная инфильтрация, начинающаяся вскоре после контакта с токсикантом) и системном уровнях (повышение температуры тела до 40 °С, лейкоцитоз: 30 000–35 000 лейкоцитов в микролитре) [139, 189]. Системная воспалительная реакция при поражениях ипритом во многом напоминает синдром системной воспалительной реакции при массивных травматических повреждениях, характеризующийся гиперактивацией иммунной системы [190]. Для обоих этих состояний характерен массивный цитолиз, сопровождающийся выделением во внеклеточное пространство митохондриальных антигенов (формил-пептиды, CpG-содержащие фрагменты ДНК). По современным представлениям именно эти патоген-ассоциированные молекулярные образы (PAMPs) рецептор-опосредованно инициируют системную воспалительную реакцию путем активирования полиморфноядерных нейтрофилов и макрофагов [78]. Вероятнее всего, поэтому элиминация нейтрофилов из организма биологических моделей непосредственно перед воздействием аналога сернистого иприта приводила к значительному ослаблению токсических эффектов алкилирующего агента [191]. При рассмотрении патогенетических механизмов формирования системной воспалительной реакции при иприт-индуцированном цитолизе в качестве клеток-сенсоров митохондриальных PAMPs упоминались только клетки иммунной системы. К этому следует добавить, что мощным провоспалительным потенциалом, способным реализоваться в присутствии митохондриальных антигенов, обладают также эпителиоциты и эндотелиоциты [112, 192–198].

Одно из характерных проявлений ипритных поражений кожного покрова — образование пузырей. В рамках предлагаемой модели механизмов реализации токсических эффектов иприта становится очевидным, что стимулированная митохондриальными антигенами (DAMPs) экспрессия матриксных металлопротеиназ клеточными элементами кожи (резидентными и нерезидентными) [199–202], литически разрушающих гликопротеиновые компоненты (ламинин) матрикса базальных мембран [203], на фоне повышенной проницаемости стенок микрососудов и экстравазации жидкой части крови [15] и являются причинами дермально-эпидермальной сепарации, т. е. образования пузырей.

Хорошо известен феномен чрезвычайно медленного заживления кожных изъязвлений, индуцированных ипритом [23]. Эпителизация раневых дефектов кожи, как физиологический репаративный процесс, начинается с активирования кератиноцитов под влиянием цитокинов и ростовых факторов, продуци-

руемых самими кератиноцитами и лимфоцитами, локализованными в краях раневого дефекта. Активирование кератиноцитов сопровождается изменением их фенотипического паттерна — они приобретают миграционную способность и свойство гиперпролиферативности. В случае успешного завершения первичной эпителизации раневого дефекта под влиянием факторов, экспрессируемых лимфоцитами и фибробластами, блокируются генетические механизмы активирования кератиноцитов и стимулируется та часть генома, которая обеспечивает клеточный ответ на дифференцировочные стимулы, возвращающие клетку в состояние исходного фенотипа [204, 205]. Здесь следует обратить внимание на то, что фенотип отдельной клетки и многоклеточного организма в целом определяется, главным образом, внегеномной частью ДНК (не содержащей информации об аминокислотных последовательностях полипептидных цепей), управляющей экспрессией генов [206]. Эпигенетическое управление экспрессией генов (соответственно современным представлениям) включает механизмы метилирования ДНК и различные модификации структуры гистонов хроматина [207]. Считается, что эпигенетическая наследственная система менее стабильна, чем геном, и более чувствительна к различным возмущающим влияниям, включая воздействие токсикантов [208, 209]. Постепенно приходит понимание того, что эпигенетическое перепрограммирование — ключевая детерминанта многих заболеваний [210–212]. В настоящее время имеются весомые экспериментальные данные, свидетельствующие об участии пероксинитрита ( $\text{ONOO}^-$ ) в формировании токсических эффектов иприта [213]. Пероксинитрит (проксидант нерадикальной природы) обладает мощным нитрирующим эффектом, способен ковалентно модифицировать структуру различных биомолекул, включая ДНК [214–216]. При ипритной интоксикации повреждается не только геном, но и эпигенетические регуляторные механизмы [217]. Поскольку производное сернистого иприта сульфоний-катион не только активируется цитозольными флавиносодержащими энзимами (в том числе NO-синтазой), но и быстро инактивирует их будучи в форме углерод-центрированного радикала [26], то, по сути дела, единственным мощным источником  $\text{NO}^*$  (прекурсора пероксинитрита) в кератиноцитах остается митохондриальная NO-синтаза. К сожалению, данный аспект иприт-ассоциированной патобиохимии практически не изучался. Тем не менее в одной из недавних работ установлено, что препараты, модулирующие регуляторные эпигенетические механизмы, самым существенным образом влияли на проявления ипритной интоксикации [217]. Исходя из изложенного, можно полагать, что вялость репаративных процессов при ипритных поражениях связана с митохондриальной дисфункцией и является следствием иприт-ассоциированных эпигенетических нарушений. Такие эпигенетические изменения, наследуемые другими поколениями клеток, по-видимому, могут обуславливать отдаленные, практически не поддающиеся даже интенсивному терапевтическому воздействию [22, 218], последствия ипритной интоксикации.

При изучении повреждающего действия сернистого иприта на внутриядерную и митохондриальную ДНК кератиноцитов (при дозовой нагрузке вызывающей образование пузырей) выявлено, что общее количество моно-аддуктов и сшивок цепей (в пересчете на тысячу азотистых оснований) в геномной ДНК в 4–5 раз превосходит уровень, наблюдаемый в митохондриальной ДНК [219]. Учитывая повышенную тропность сульфоний-катиона к митохондриям, казалось бы, данные экспериментальные факты находятся в явном противоречии

с предлагаемой моделью патогенеза ипритных поражений. Но противоречия нет — сульфоний-катион, претерпев восстановительную трансформацию в высоко реакционно-способный углерод-центрированный свободный радикал на комплексе I электронтранспортных цепей внутренней мембраны митохондрий, там же и расходуется в реакциях алкилирования. И это подтверждается результатами экспериментов о необратимом прямом ингибировании сернистым ипритом активности именно комплекса I митохондриальных электронтранспортных цепей при сохранении в относительно интактном состоянии комплексов II, III и IV [220]. А также высокой цитопротективной активностью при ипритной интоксикации тех каталитических антиоксидантов-металлопорфиринов, которые имеют в структуре катонные группировки (позволяющие им, по-видимому, проникать в межмембранное пространство митохондрий) [221]. То есть матрикс митохондрий оказывается относительно защищенным компартментом, в который иприт может проникнуть только в форме нативной молекулы.

Алкилирование ипритом различных внутриклеточных биомакромолекул, иприт-индуцированные оксидативный и нитрозативный стресс, дисфункция митохондрий должны с неизбежностью заканчиваться некротической гибелью клетки с выделением ее содержимого (включая компоненты митохондриального матрикса) во внеклеточную среду. И это находит многочисленные экспериментальные подтверждения. Однако имеются экспериментальные данные и о том, что в течение 6–8 часов после воздействия иприта преобладает апоптотический вариант гибели клеток, а некроз проявляется только в более поздний период [222–225]. Данные о преобладании энергозависимого, т. е. апоптотического варианта гибели клеток в первые часы после воздействия сернистого иприта следует трактовать с осторожностью. Во-первых, вариант гибели клеток определяется дозозависимым образом и с определенного уровня доз наблюдается только некротическое разрушение клеток [226]. Во-вторых, при изучении цитотоксических эффектов иприта *in vitro* на культурах клеток используются культуральные среды содержащие 0,5 ммоль натрия пирувата [26], являющегося митохондриальным антиоксидантом [227, 228], способного блокировать неконтролируемую некротическую деструкцию клеток [229, 230].

Предлагаемая модель патогенеза ипритных поражений позволят сделать некоторые прогнозные предположения:

- одноклеточные эукариоты (содержащие митохондрии) будут менее устойчивы к токсическому воздействию иприта в сравнении с прокариотами (не имеющими митохондрий);
- для предотвращения митохондриальных дисфункций (посредством шунтирования комплекса I дыхательной цепи, подвергающемуся алкилирующему действию иприта в первую очередь) будет полезным назначение сукцината. Сукцинат окисляется под влиянием сукцинатдегидрогеназы (комплекс II электронтранспортной цепи). Сукцинат-связывающий и FAD-содержащий активные центры комплекса II, локализованного на матриксной поверхности внутренней митохондриальной мембраны, обращены в сторону матрикса митохондрии [231–233]. То есть флавиносодержащий сайт сукцинатдегидрогеназы находится в относительно защищенном компартменте и должен ингибироваться ипритом в меньшей степени, чем NADH-дегидрогеназа комплекса I;

- ингибирование рецепции митохондриальных антигенов (СpG-содержащих фрагментов ДНК и формил-пептидов) может оказаться полезным в терапии и профилактике ипритной патологии;
- блокирование рианодиновых рецепторов будет способствовать сохранению структурно-функциональной полноценности митохондрий в условиях ипритной интоксикации;
- ингибирование митохондриальной NO-синтазы способно ослабить проявления ипритных поражений.

## Литература

1. Лос К. Синтетические яды: Пер. с нем. – М.: Иностран. Лит., 1963. – 258 с.
2. Фрайс А., Вест К. Химическая война / Пер. с англ. – М.: Гос. Воен. Изд., 1924. – 505 с.
3. Сошестввенский Н. А. Токсикология боевых отравляющих веществ. – М.-Л.: Гос. Изд. Колхоз. Совхоз. Лит, 1933. – 355 с.
4. Голиков С. Н. (ред.) Руководство по токсикологии отравляющих веществ. – М.: Медицина, 1972. – 471 с.
5. Другов Ю. В. (ред.) Санитарно-химическая защита. Патология, клиника и терапия поражений отравляющими веществами. – М.: Медгиз, 1959. – 435 с.
6. Uses of CW since the First World War. <http://www.fas.org/bwc/papers/review/cwtable.htm>
7. Blister agent: Sulfur mustard (H, HD, HS). <http://www.cbwinfo.com/chemical/blister/HD.shtml>
8. Papirmeister B., Feister A. J., Robinson S. I., Ford R. D. Medical defense against mustard gas: toxic mechanisms and pharmacological implications. – Boston: CRC Press, 1991. – P. 174-199.
9. United Nations center for disarmament affairs. Disarmament: the chemical weapons convention with selective index. – N. Y.: UN, 1994. – UN publication E.95.IX.2.
10. Geraci M. J. Mustard gas: imminent danger or eminent threat? // Ann. Pharmacother. – 2008. – Vol. 43 (2). – P. 237-246.
11. Smith K. J., Hurst C. G., Moeller R. B. et al. Sulfur mustard: its continuing threat as a chemical warfare agent, the cutaneous lesions induced, progress in understanding its mechanisms of action, its long-term health effects, and new developments for protection and therapy // J. Am. Acad. Derm. – 1995. – Vol. 32 (5). – P. 765-776.
12. Goozner B., Lutwick L. I., Bourke E. Chemical terrorism: a primer for 2002 // J. Assoc. Acad. Minor. Phys. – 2002. – Vol. 13. – P. 14-18.
13. Rosenbloom M., Leikin J. B., Vogel S. N., Chaudry Z. A. Biological and chemical agents: brief synopsis // Am. J. Ther. 2002. – Vol. 9. – P. 5-14.
14. Henretiq F. M. Preparation for terrorist threats: biologic and chemical agents // Pediatr. Emerg. Med. – 2009. – Vol. 10 (3). – P. 130-135.
15. Vogt R. F., Dannenberg A. M., Schofield B. H. et al. Pathogenesis of skin lesions caused by sulfur mustard // Fundam. Appl. Toxicol. – 1984. – Vol. 4. – P. S71-S83.
16. Somani H. D., Balu S. R. Toxicodynamics of sulfur mustard // Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol. – 1989. – Vol. 27. – P. 419-435.
17. Petrali J. P., Oglesby S. B., Mills K. R. Ultrastructural correlates of sulfur mustard toxicity // J. Toxicol. Cut. Ocular Toxicol. – 1990. – Vol. 9. – P. 193-214.

18. *Monteiro-Riviere N. A., King J. R., Riviere J. E.* Mustard induced vesication in isolated perfused skin: biochemical, physiological and morphological studies Proceedings of the 1991 medical defense bioscience review. Aberdeen Proving Ground, MD: US Army // Medical Research Institute of Chemical Defense. – Vol. 199. – P. 159-162.
19. *Zhang Z., Peters B. P., Monteiro-Riviera N. A.* Assessment of sulfur mustard interaction with basement membrane components // *Cell. Biol. Toxicol.* – 1995. – Vol. 11. – P. 89-101.
20. *Ray R., Majerus B. J., Munavalli G. S., Petrali J. P.* Sulfur mustard-induced increase in intracellular calcium: a mechanism of mustard toxicity. – 1993. – <http://handle.dtic.mil/100.2/ADP008780>
21. *Ray P., Chakraborti A. K., Broomfield C. A., Ray R.* Sulfur mustard-stimulated proteases: a target for antivesicant poisoning // *J. Appl. Toxicol.* – 2002. – Vol. 22 (2). – P. 139-140.
22. *Balali-Mood M., Hefazi M.* The Pharmacology, toxicology, and medical treatment of sulfur mustard poisoning // *Fundam. Clin. Pharmacol.* – 2005. – Vol. 19 (3). – P. 297-315.
23. *Graham J. S., Chilcoff R. P., Rice et al.* Wound healing of cutaneous injuries: strategies for the development of improved therapies // *J. Burns Wounds.* – 2005. – Vol. 5 (4). – P. e1.
24. *Sourdeval M., Lemaire C., Deniaud A. et al.* Inhibition of caspase-dependent mitochondrial permeability transition protects airway epithelial cells against mustard-induced apoptosis // *Apoptosis.* – 2006. – Vol. 11 (9). – P. 1545-1559.
25. *Korkmaz A., Yaren H., Topal T., Oter S.* Molecular targets against mustard toxicity: implications of cell surface receptors, peroxynitrite production, and PARP activation // *Arch. Toxicol.* – 2006. – Vol. 80. – P. 662-670.
26. *Paromov V., Suntres Z., Smith M., Stone W. L.* Sulfur mustard toxicity following dermal exposure. Role of oxidative stress, and antioxidant therapy // *J. Burns Wounds.* – 2007. – Vol. 7. – P. 60-85.
27. *Ray R., Keyser B., Benton B. et al.* Sulfur mustard induces apoptosis in cultured normal human airway epithelial cells: evidence of a dominant caspase-8-mediated pathway and differential cellular responses // *Drug Chem. Toxicol.* – 2008. – Vol. 31 (3). – P. 137-148.
28. *Debiak M., Kehe K., Burkle A.* Role of poly (ADP-ribose) polymerase in sulfur mustard toxicity // *Toxicol.* – 2009. – Vol. 263 (1). – P. 20-25.
29. *Smith W. J.* Therapeutic options to treat sulfur mustard poisoning – the road ahead // *Toxicol.* – 2009. – Vol. 263 (1). – P. 70-73.
30. *Shakarjian M. P., Heck D. E., Gray J. P. et al.* Mechanisms mediating the vesicant actions of sulfur mustard after cutaneous exposure // *Tox. Sci.* – 2010. – Vol. 114 (1). – P. 5-19.
31. *D`Amous D., Desnoyers S., D`Silva I., Poirier G. G.* Poly (ADP-ribosyl)ation reactions in the regulation of nuclear function // *Biochem. J.* – 1999. – Vol. 342 (Pt 2). – P. 249-268.
32. *Hinshaw D. B., Lodhi I. J., Hurley L. L. et al.* Activation of poly (ADP-ribose) polymerase in endothelial cells and keratinocytes: role in an *in vitro* model of sulfur mustard-mediated vesication // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 1999. – Vol. 156. – P. 17029.
33. *Bhat K. R., Benton B. J., Rosenthal D. S. et al.* Role of poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) in DNA repair in sulfur mustard-exposed normal human epidermal keratinocytes (NHEK) // *J. Appl. Toxicol.* – 2000. – Vol. 20 (Suppl 1). – P. S13-S17.

34. Rosenthal D. S., Simbulan-Rosenthal C. M., Iyer S. et al. Calmodulin, poly (ADP-ribose) polymerase and p53 are targets for modulating the effects of sulfur mustard // *J. Appl. Toxicol.* – 2000. – Vol. 20 (Suppl 1). – P. S43–S49.
35. Shall S., de Murcia G. Poly (ADP\_RIBOSE) polymerase-1: what have we learned from the deficient mouse model? // *Mutat. Res.* – 2000. – Vol. 460. – P. 1–5.
36. Burkle A. PARP-1: a regulator of genomic stability linked with mammalian longevity *Chembiochem.* – 2001. – Vol. 2. – P. 725–728.
37. Herceg Z., Wang Z. Q. Functions of poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) in DNA repair, genomic integrity and cell death // *Mutat. Res.* – 2001. – Vol. 477. – P. 970110.
38. Rosenthal D. S., Simbulan-Rosenthal C. M., Lin W. F. et al. PARP determines the mode of cell death in skin fibroblasts, but not keratinocytes, exposed to sulfur mustard // *J. Invest. Dermatol.* – 2001. – Vol. 117. – P. 1566–1573.
39. Decker P., Muller S. Modulating poly (ADP-ribose) polymerase activity: potential for the prevention and therapy of pathogenic situations involving DNA damage and oxidative stress // *Curr. Pharm. Biotechnol.* – 2002. – Vol. 3. – P. 275–283.
40. Chiarugi A. Poly (ADP-ribose) polymerase: killer or conspirator? The «suicide hypothesis» revisited // *Trends Pharmacol. Sci.* – 2002. – Vol. 23. – P. 122–129.
41. Bouchard V. J., Rouleau M., Poirier G. G. PARP-1, a determinant of cell survival in response to DNA damage // *Exp. Hematol.* – 2003. – Vol. 31. – P. 446–454.
42. Zong W. X., Ditsworth D., Bauer D. E. et al. Alkylating DNA damage stimulates a regulated form of necrotic cell death // *Genes Dev.* – 2004. – Vol. 18. – P. 1272–1282.
43. Kim M. Y., Zhang T., Kraus W. L. Poly (ADP-ribosyl)ation by PARP-1: «PAR-laying» NAD<sup>+</sup> into nuclear signal // *Genes Dev.* – 2005. – Vol. 19. – P. 1951–1967.
44. Ying W., Alano C. C., Garnier P., Swanson R. A. NAD<sup>+</sup> as a metabolic link between DNA damage and cell death // *J. Neurosci. Res.* – 2005. – Vol. 79. – P. 216–223.
45. Balali-Mood M., Mousavi S. H., Balali-Mood B. Chronic health effects of sulfur mustard exposure with mousavi reference to Iranian veterans // *Emerg. Health Threats J.* 2008. – Vol. 1. – P. e7.
46. Mol M. A., van de Ruit A. M., Kluijvers A. W. NAD<sup>+</sup> levels and glucose uptake of cultured human epidermal cells exposed to sulfur mustard // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 1989. – Vol. 98. – P. 159–165.
47. Mol M. A., van der Schans G. P., Lohman P. H. Quantification of sulfur mustard-induced DNA interstrand crosslinks and single-strand breaks in cultured human epidermal keratinocytes // *Mutat. Res.* – 1993. – Vol. 294. – P. 235–245.
48. Lin P., Bernstein I. A., Vaughan F. L. Failure to observe a relationship between bis- (beta-chlorethyl) sulfide-induced NAD depletion and cytotoxicity in the rat keratinocyte culture // *J. Toxicol. Environ Health.* – 1994. – Vol. 42 (4). – P. 393–405.
49. Orrenius S., Nicotera P. On the role of calcium in chemical toxicity // *Arch. Toxicol.* – 1987. – Vol. 11. – P. 11–19.
50. Биологическое действие ионизирующих излучений Б. С. Э. – М: Советская энциклопедия, 1970. – Т. 3. – С. 344–346.
51. Радиационная биохимия / Под ред. А. М. Кузина. – М.: Изд-во АН СССР, 1962. – 335 с.
52. Kang S.-I., Spears C. P. Linear energy relationship and cytotoxicities of para-substituted 2-haloethyl selenides and bis (2-chloroethyl selenides) // *J. Med. Chem.* – 1987. – Vol. 30. – P. 597–602.

53. Yang Y. C., Szanfraniec L. L., Beandry W. T., Ward J. R. Kinetic and mechanisms of hydrolysis of 2-chloroethyl sulfides // *J. Org. Chem.* — 1988. — Vol. 53 (14). — P. 3293–3297.
54. Brimfield A. A., Hodgson E. Observations on the interaction of sulfur mustard with cytochrome P450 // *Toxicol.* — 2005. — Vol. 84. — P. 159–160.
55. Brimfield A. A., Mancebo A. M. Monofunctional mustards form free radicals when enzymatically reduced making them useful as model compounds for mechanistic study and drug screening for sulfur mustard // *Toxicol.* — 2007. — Vol. 96. — P. 74.
56. Brimfield A. A., Mancebo A. M., Mason R. P. et al. Free radical production from the interaction of 2-chloroethyl vesicants (mustard gas) with pyridine nucleotide-driven flavoprotein electron transport system // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* — 2009. — Vol. 234 (1). — P. 128–134.
57. Sawyer T. W., Lundy P. M., Weiss M. T. Protective effect of an inhibitor of nitric oxide synthase on sulfur mustard toxicity *in vitro* // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* — 1996. — Vol. 141. — P. 138–144.
58. Sawyer T. W. Characterization of the protective effects of L-nitro-arginine methyl ester (L-NAME) against the toxicity of sulfur mustard *in vitro*.
59. Sawyer T. W. Synergistic protective effects of selected arginine analogues against sulfur mustard toxicity in neurone culture // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* — 1999. — Vol. 155. — P. 169–176.
60. Wattan M., Bey T. Mustard gas or sulfur mustard gas: an old chemical agent as a new terrorist threat // *Prehospital. Disast. Med.* — 2009. — Vol. 24 (1). — P. 19–29.
61. Sidell F. R., Urbanetti J. S., Smith W. J., Hurst C. G. Vesicants Warfare, Weaponry and the Casualty-Medical Aspects of Chemical and Biological Warfare. — Washington, DS: Office of the Surgeon General at TMM Publications, Borden Institute, Walter Reed Army Medical Center. — Vol. 1997. — P. 197–228 *Textbook of Military Medicine / Eds.: F. R. Sidell, E. T. Takafuji, D. R. Franz.* — Part I.
62. Росс М. Ф., Кесло Д. Ф., Блейки Ф. Х. и др. Липофильные катионы трифенилфосфония как инструмент для изучения митохондриальной биоэнергетики и биологии свободных радикалов: Обзор. — 2005. — Vol. 70 (2). — P. 273–283.
63. Чистяков В. А., Сазыкина М. А., Александрова А. А. и др. Антимутагенная активность производного пластохинона, адресованного в митохондрии // *Биохимия.* — 2010. — Vol. 75 (3). — P. 331–336.
64. Скулачев В. П. Геропротекторы нового поколения: проникающие катионы как нанотранспортеры антиоксидантов в митохондрии. 2009. [rusnanotech09.rusnanoforum.ru /Public/.../theses/.../05\\_Skulachev\\_rus.pdf](http://rusnanotech09.rusnanoforum.ru/Public/.../theses/.../05_Skulachev_rus.pdf)
65. Skulachen V. P., Sharaf A. A., Liberman E. A. Proton conductors in the respiratory chain and artificial membranes // *Nature.* — 1967. — Vol. 216. — P. 718–719.
66. Skulachev V. P. *Membrane bioenergetics.* — Berlin: Springer-Verlag. — 442 p.
67. Palmieri F., Quagliariello E. Quatitative correlation between distribution of anions and the pH difference across the mitochondrial membrane // *Eur. J. Biochem.* — 1970. — Vol. 17. — P. 230–238.
68. Porcelli A. M., Ghelli A., Zanna C. et al. pH difference across the outer mitochondrial membrane measured with a green fluorescent protein mutant // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2005. — Vol. 326 (4). — P. 799–804.
69. Tew D. G. Inhibition of cytochrome P450 reductase by the diphenyliodonium cation kinetics analysis and covalent modifications. — 1993. — Vol. 32. — P. 10209–10215.

70. Steuhr D. J., Fasehun O. A., Kwon N. S. et al. Inhibition of macrophage and endothelial cell nitric oxide synthase by diphenylethylideneiodonium and its analogs // *FASEB J.* — 1991. — Vol. 5. — P. 98-103.

71. Gray J. P., Heck D. E., Mishin V. et al. Paraquat increases cyanide-insensitive respiration in murine lung epithelial cells by activating an NAD (P)H: paraquat oxidoreductase // *J. Biol. Chem.* — 2007. — Vol. 282. — P. 7939-7949.

72. Halliwell B., Gutteridge J. M. C. *Free Radicals in Biology and Medicine.* — Vol. 3. — N. Y.: Oxford University Press, 1989. — 300 p.

73. Sherratt H. S. Mitochondria: structure and function *Rev. Neurol.* — 1991. — Vol. 147 (6-7). — P. 417-430.

74. Brandt U. Energy converting NADH: quinone oxidoreductase (complex I) // *Annu. Rev. Biochem.* — 2006. — Vol. 75. — P. 69-92.

75. Poyton R. O., McEven J. E. Crosstalk between nuclear and mitochondrial genomes // *Annu. Rev. Biochem.* — 1996. — Vol. 65. — P. 563-607.

76. Dobson G. P., Himmelreich U. Heart design: free ATP scales with absolute mitochondrial and myofibrillar volumes from mouse to human // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2002. — Vol. 1553930. — Vol. 261-267.

77. Маргелус Л. Роль симбиоза в эволюции клетки. — М.: Мир, 1983. — 352 с.

78. Zhang Q., Raoof M., Chen Y. Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury // *Nature.* — 2010. — Vol. 464 (7285). — P. 104-107.

79. Jabbari K., Bernardi G. Cytosine methylation and CpG, TpG (CpA) and TpA frequencies // *Gene.* — 2004. — Vol. 333. — P. 143-149.

80. Chockaligam A., Lopez J. L., Brooks J. C., Leifer C. A. Toll-like receptor 9 constitutively traffics from the ER to the lysosome prior to stimulation with CpG DNA // *FASEB J.* — 2008. — Vol. 22. — P. 672-678.

81. Chockaligam A., Brooks J. C., Cameron J. L. et al. TLR9 traffics through the Golgi complex to localize to endolysosomes and respond to CpG DNA // *Immunol. Cell. Biol.* — 2009. — Vol. 87 (3). — P. 209-217.

82. Akira S., Takeda K. Toll-like receptor signaling // *Nat. Rev. Immunol.* — 2004. — Vol. 4 (7). — P. 499-511.

83. Kneuferman P., Baumgarten G., Koch A. et al. CpG oligonucleotides activates Toll-like receptor 9 and causes lung inflammation *in vivo* // *Respir. Res.* — 2007. — Vol. 8 (1). — P. 72.

84. Plitas G., Burn B. M., Nguyen H. M. et al. Toll-like receptor 9 inhibition reduces mortality in polymicrobial sepsis // *J. Exp. Med.* — 2008. — Vol. 205 (6). — P. 1277-1283.

85. Le Y., Murphy P. M., Wang J. M. Formyl-peptide receptor revisited // *Trends Immunol.* — 2002. — Vol. 23 (11). — P. 541-548.

86. Le Y., Wang J. M., Lin X. et al. Biologically active peptides interacting with the G protein-coupled formylpeptide receptor // *Protein Pept. Lett.* — 2007. — Vol. 14 (9). — P. 846-853.

87. Partida-Sanches S., Cockayne D. A., Monard S. et al. Cyclic ADP-ribose production by CD38 regulates intracellular calcium release, extracellular calcium influx and chemotaxis in neutrophils and is regulated for bacterial clearance *in vivo* // *Nat. Med.* — 2001. — Vol. 7. — P. 1209-1216.

88. Panaro M. A., Acquafredda A., Sisto M. et al. Biological role of the N-formyl peptide receptors // *Immunopharm. Immunotoxicol.* — 2006. — Vol. 28 (1). — P. 103-127.

89. Zhu P., Liu X., Trempl L. S. et al. Mechanism and regulatory function of CpG signaling via scavenger receptor-B1 in primary B cells // *J. Biol. Chem.* — 2009. — Vol. 284 (34). — P. 22878-22887.



90. *Crabtree G. R.* Generic signals and specific outcomes: signaling through  $\text{Ca}^{2+}$ , calcineurin, and NF-AT Cell. – 1999. – Vol. 96 (5). – P. 611–614.
91. *Zalk R., Lehnart S. E., Marks A. R.* Modulation of the ryanodine receptor and intracellular calcium // *Annu. Rev. Biochem.* – 2007. – Vol. 76. – P. 367–385.
92. *Gyorke S., Terentyev D.* Modulation of ryanodine receptor by luminal calcium and accessory proteins in health and cardiac disease // *Cardiovasc. Res.* – 2008. – Vol. 77. – P. 245–255.
93. *Wehrens X. H., Marks A. R.* Novel therapeutic approaches for heart failure by normalizing calcium cycling // *Nat. Rev. Drug Discov.* – 2004. – Vol. 3 (7). – P. 565–573.
94. *Choe C.-un, Ehrlich B. E.* The inositol 1,4,5-trisphosphate receptors (IP<sub>3</sub>R) and its regulators: sometimes good and sometimes bad teamwork // *Sci. STKE.* – 2006. – Vol. 363. – P. 15.
95. *Bezprozvanny I.* The inositol 1,4,5-trisphosphate receptors // *Cell Calcium.* – 2005. – Vol. 38 (3–4). – P. 261–309.
96. *Brailoiu E., Churamani D., Cai X. et al.* Essential requirement for two-pore channel 1 in NAADP-mediated calcium signaling // *J. Cell. Biol.* – 2009. – Vol. 186 (2). – P. 201–209.
97. *Messutat S., Heine M., Wicker D.* Calcium-induced calcium release in neurosecretory insect neurons: fast and slow responses // *Cell Calcium.* – 2001. – Vol. 30 (3). – P. 199–211.
98. *Roderick H. L., Berridge M. J., Bootman M. D.* Calcium-induced calcium release // *Curr. Biol.* – 2003. – Vol. 13 (11). – P. R425.
99. *Verkhatsky A.* Physiology and pathophysiology of the calcium store in the endoplasmic reticulum of neurons // *Physiol. Rev.* – 2005. – Vol. 85 (1). – P. 201–279.
100. *Foskett J. K., White C., Cheung K.-H., Mak D.-O. D.* Inositol trisphosphate receptor  $\text{Ca}^{2+}$  release channel // *Physiol. Rev.* – 2007. – Vol. 87 (2). – P. 593–658.
101. *Yamamoto K., Nakano M., Hashimoto K. et al.* Emergence of a functional coupling between inositol-1,4,5-trisphosphate receptors and calcium channels in developing neocortical pyramidal neurons // *Neurosci.* – 2002. – Vol. 109 (4). – P. 677–685.
102. *Higashida H., Hashii M., Yokoyama S. et al.* Cyclic ADP-ribose a potential second messenger for neuronal  $\text{Ca}^{2+}$  signaling // *J. Neurochem.* – 2001. – Vol. 76 (2). – P. 321–331.
103. *Pollock J., Crawford J. H., Wootton J. F. et al.* A comparison between the distinct inward currents activated in rat cultured DRG neurons by intracellular flash photolysis of two forms of caged cGMP // *Neurosci. Lett.* – 2003. – Vol. 338 (2). – P. 143–146.
104. *Zhu M. X., Ma J., Parrington J. et al.* Calcium signaling via two-pore channels: local or global, that is the question // *Am. J. Cell Physiol.* – 2010. – Vol. 298 (3). – P. C430–C441.
105. *Aramburu J., Rao A., Klee C.* Calcineurin: from structure to function // *Curr. Top. Cell. Regul.* – 2000. – Vol. 36. – P. 273–295.
106. *Rusnak F., Martz P.* Calcineurin: form and function // *Physiol. Rev.* – 2000. – Vol. 80. – P. 1483–1521.
107. *Kissinger C. R., Parge H. E., Knighton D. R. et al.* Crystal structures of human calcineurin and the human FKPB12–FK506-calcineurin complex // *Nature.* – 1995. – Vol. 378 (6557). – P. 641–644.
108. *Karin M.* The regulation of AP-1 activity by mitogen-activated protein kinases // *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* – 1996. – Vol. 351 (1336). – P. 127–134.

109. Karin M., Liu Z., Zondi E. AP-1 function and regulation // *Curr. Opin. Cell. Biol.* – 1997. – Vol. 9 (2). – P. 240–246.
110. Macian F., Lopez-Rodriguez C., Rao A. Partners in transcription: NFAT and AP-1 // *Oncogene.* – 2001. – Vol. 20 (19). – P. 2476–2489.
111. Yoneyama M., Suhara W., Fujita T. Control of IFR-3 activation by phosphorylation // *J. Interferon Cytokine Res.* – 2002. – Vol. 22 (1). – P. 73–76.
112. Vanlaere I., Libert C. Matrix metalloproteinases as drug targets in infections caused by gram-negative bacteria and in septic shock // *Clin. Microbiol. Rev.* – 2009. – Vol. 22 (2). – P. 224–239.
113. Nagase H., Woessner J. F. Matrix metalloproteinases // *J. Biol. Chem.* – 1999. – Vol. 274 (31). – P. 21491–21494.
114. Somerville R. P. T., Oblander S. A., Apte S. S. Matrix metalloproteinases: old dog with new tricks // *Genome Biol.* – 2003. – Vol. 4 (6). – P. 216.
115. Chuai S., Hu T., Liu J., Shen X. Regulation of the arachidonic acid-stimulated respiratory burst in neutrophils by intracellular and extracellular calcium // *Chin. Sci. Bull.* – 2001. – Vol. 46 (4). – P. 314–317.
116. Walker G., Kunz D., Pignat W. et al. Suppression by cyclosporine A of interleukin 1 beta-induced expression of group II phospholipase A2 in rat mesangial cells // *Br. J. Pharmacol.* – 1997. – Vol. 121 (4). – P. 787–793.
117. Huang Z.-F., Massey J. B., Via D. P. Differential regulation of cyclooxygenase-2 (COX-2) mRNA stability by interleukin-1 B (IL-1B) and tumor necrosis factor-A (TNF-A) in human *in vitro* differentiated macrophages – an essential regulator of NO-mediated apoptosis // *Biochem. Pharmacol.* – 2000. – Vol. 59 (2). – P. 187–194.
118. Schievella A. R., Regier M. K., Smith W. L., Lin L. L. Calcium-mediated translocation of cytosolic phospholipase A2 to the nuclear envelope and endoplasmic reticulum // *J. Biol. Chem.* – 1995. – Vol. 270 (51). – P. 30749–30754.
119. Cummings B. S., McHowat J., Schnellman R. G. Phospholipase A (2) in cell injury and death // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2000. – Vol. 294 (3). – P. 793–799.
120. Pompeia C., Freitas J. J. S., Kim J. S. et al. Arachidonic acid cytotoxicity in leukocytes: implications of oxidative stress and eicosanoid synthesis // *Biol. Cell.* – 2002. – Vol. 94 (45). – P. 251–256.
121. Lee S. M., Cheung C. Y., Nicholls J. M. et al. Hyperinduction of cyclooxygenase-2-mediated proinflammatory cascade: a mechanism for the pathogenesis of avian influenza H5N1 infection // *J. Infect. Dis.* – 2008. – Vol. 198 (4). – P. 525–535.
122. Gabryel B., Chalimoniuk M., Stolecka A. et al. Inhibition of arachidonic acid release by cytosolic phospholipase A2 is involved in the antiapoptotic effect of FK 506 and cyclosporine A on astrocytes exposed to simulated ischemia *in vitro* // *J. Pharmacol. Sci.* – 2006. – Vol. 102 (1): 77–87.
123. Scorrano L., Penzo D., Pertoni V. et al. Arachidonic acid causes cell death through the mitochondrial permeability transition. Implication for tumor necrosis factor-alpha apoptotic signaling // *J. Biol. Chem.* – 2001. – Vol. 276 (15): 12035–12040.
124. Kumar O., Vijayaraghavan R. Effect of sulfur mustard inhalation exposure on some urinary variables in mice // *J. Appl. Toxicol.* – 1988. – Vol. 18 (4): 257–259.
125. Frederiks W. M., Vreeling-Sindelarova H. Ultrastructural localization of xanthine oxidoreductase activity in isolated rat liver cells // *Acta Histochem.* – 2002. – Vol. 104 (1). – P. 29–37.
126. Linder N., Martelin E., Lapatto R., Raivio K. O. Posttranslation inactivation of human xanthine oxidoreductase by oxygen under standard culture conditions // *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* – 2003. – Vol. 285 (1). – P. C48–C55.

127. Brandes R. P., Koddenbery G., Gwinner W. et al. Role of increased production of superoxide anions by NAD (P)H oxidase in prolonged endotoxemia Hypertension. – 1999. – Vol. 33 (5). – P. 1243-1249.

128. Page S., Powell D., Benbouberta M. et al. Xanthine oxidoreductase in human mammary epithelial cells: activation to in response to inflammatory cytokines // Biochim. Biophys. Acta. – 1998. – Vol. 1381 (2). – P. 191-202.

129. Spiekerman S., Landmesser U., Dikalov S. et al. Electron spin resonance characterization of vascular xanthine and NAD (P)H oxidase activity in patients with coronary artery disease: relation to endothelium-dependent vasodilation // Circulation. – 2003. – Vol. 107 (10). – P. 1383-1389.

130. Rouquette M., Page S., Bryant R. et al. Xanthine oxidoreductase is asymmetrically localized on the outer surface of human endothelial and epithelial cells in culture // FEBS Lett. – 1988. – Vol. 426 (3). – P. 397-401.

131. Jansson E. A., Huang L., Malkey R. et al. A mammalian functional nitrate reductase that regulates nitrite and nitric oxide homeostasis // Nat. Chem. Biol. – 2008. – Vol. 4 (7). – P. 411-417.

132. Pacher P., Nivorozhkin A., Szabo C. Therapeutic effects of xanthine oxidase inhibitors: renaissance half century after discovery of allopurinol // Pharmacol. Rev. – 2006. – Vol. 58 (1). – P. 87-114.

133. George J., Struthers A. D. Role of urate, xanthine oxidase and the effects of allopurinol in vascular oxidative stress // Vascular Health Risk Management. – 2009. – Vol. 5 (1) – P. 256-272.

134. Dolganova A., Sharonov B. P. Application of various antioxidants in the treatment of influenza // Brazilian J. Med. Biol. Res. – 1997. – Vol. 30 (11). – P. 1333-1336.

135. Harris C. M., Massey V. The reaction of reduced xanthine dehydrogenase with molecular oxygen – reaction kinetics and measurement of superoxide radical // J. Biol. Chem. – 1997. – Vol. 272 (13). – P. 8370-8379.

136. Boueiz A., Damarla M., Hassoun P. M. Xanthine oxidoreductase in respiratory and cardiovascular disorders // Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. – 2008. – Vol. 294 (5). – P. L830-L840.

137. Doel J. J., Godberg B. L. J., Eisenthal R., Harrison R. Reduction of organic nitrates catalyzed by xanthine oxidoreductase under anaerobic conditions // Biochim. Biophys. Acta. – 2001. – Vol. 1527 (1-2). – P. 81-87.

138. Chilcott R. P., Jenner J., Carrick W. et al. Human skin absorption of bis-2-(chloroethyl)sulphide (sulphur mustard) *in vitro* // J. Appl. Toxicol. – 2000. – Vol. 20. – P. 349-355.

139. Вайль С. С., Пожариский Ф. И. Патологическая анатомия поражений боевыми ОВ. – М.-Л.: Медгиз, 1940. – 295 с.

140. Sawyer D. T. Oxygen complexes and oxygen activation by transition metals / Eeds: A. E. Martell, D. T. Sawyer. – N.-Y.-London: Plenum Press, 1988. – P. 131-147.

141. Владимирова Ю. А., Азизова О. А., Деев Ф. И. и др. Свободные радикалы в живых системах. Биофизика (Итоги науки и техники ВИНТИ АН СССР). – М.: ВИНТИ, 1991. – Т. 29. – 252 с.

142. Янковский О. Ю. Токсичность кислорода и биологические системы (эволюционные, экологические и медико-биологические аспекты). – СПб.: Игра, 2000. – 294 с.

143. Morris C. J., Earl J. R., Trenam C. W. Reactive oxygen species and iron a dangerous partnership in inflammation // Int. J. Biochem. Cell. Biol. – 1995. – Vol. 27 (2). – P. 103-122.

144. Sunil V. R., Gardner C. R., Laskin J. D. Macrophages and tissue injury: agents of defense or destruction? // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* – 2010. – Vol. 51.
145. Gerecke D. R., Chen M., Isukapalli S. S. et al. Differential gene expression profiling of mouse skin after mustard exposure: extendent time response and inhibitor effect // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2009. – Vol. 234. – P. 156–165.
146. Metz C. N., Bucala R. MIF. – San Diego CA: Academic Press, 2000. – P. 703–716.
147. Calandra T., Spiegel L. A., Metz C. N., Bucala R. Macrophage migration inhibitory factor is critical mediator of the activation of immune cells by exotoxin of gram-positive bacteria. – 1998. – Vol. 95. – P. 11383–11388.
148. Calandra T., Echtenacher B., Roy D. L. et al. Protection from septic shock by neutralization of macrophage migration inhibitory factor // *Nat. Med.* – 2000. – Vol. 6 (2). – P. 1640170.
149. Mitchell R. A., Liao H., Chesney J. et al. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) sustains macrophage proinflammatory function by inhibiting p53: regulatory role in the innate immune response // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2002. – Vol. 99 (1). – P. 345–350.
150. Bustin M. Regulation of DNA-dependent activities by the functional motifs of the high-mobility-group chromosomal proteins // *Mol. Cell. Biol.* – 1999. – Vol. 19. – P. 5237–5246.
151. Sun N. K., Chao C. C. The cytokine activity of HMGB1 – extracellular escape of the nuclear protein // *Chang Gung Med. J.* – 2002. – Vol. 28. – P. 673–682.
152. Singer A. J., McClain S. A., Taira B. R. et al. Apoptosis and necrosis in the ischemic zone adjacent to third degree burns // *Acad. Emerg. Med.* – 2008. – Vol. 15 (6). – P. 549–554.
153. Zhou Y., Xiong K.-L., Lin S. et al. Elevation of high-mobility group protein box 1 in serum correlates with severity of acute intracerebral hemorrhage // *Mediators Inflamm.* – 2010. – Vol. Article. – P. ID 142458 (6 pages).
154. Yang H., Wnag H., Czura C. J., Tracey K. J. The cytokine activity of HMGB1 // *J. Leukoc. Biol.* – 2005. – Vol. 78. – P. 1–8.
155. Ulloa L., Bartliwalla F. M., Andersson U. et al. High mobility group box chromosomal protein 1 as a nuclear protein, cytokine, and potential therapeutic target in arthritis // *Arthritis Rheum.* – 2003. – Vol. 5. – P. 331–342.
156. Ulloa L. The vagus nerve and the nicotinic anti-inflammatory pathway // *Nature Rev. Drug Disc.* – 2005. – Vol. 4. – P. 673–684.
157. Lotze M. T., Tracey K. J. High-mobility group box 1 protein (HMGB-1): nuclear weapon in the immune arsenal // *Nat. Rev. Immunol.* – 2005. – Vol. 5. – P. 331–342.
158. Ulloa L., Tracey L. J. The «cytokine profile»: a code for sepsis // *Trends Mol. Med.* – 2005. – Vol. 11. – P. 56–63.
159. Scaffidi P., Misteli T., Bianchi M. E. Release of chromatin protein HMGB-1 by necrotic cells triggers inflammation // *Nature.* – 2002. – Vol. 418. – P. 191–195.
160. Rovere-Querini P., Capobianco A., Scaffidi P. et al. HMGB-1 is an endogenous immune adjuvant released by necrotic cells // *EMBO Rep.* – 2004. – Vol. 5. – P. 825–830.
161. Watanabe T., Kubota S., Nagaya M. et al. The role of HMGB-1 on the development of necrosis during hepatic ischemia and ischemia/reperfusion injury in mice // *J. Surg. Res.* – 2005. – Vol. 124. – P. 59–66.
162. Wang H., Bloom O., Zhang M. et al. HMGB-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice // *Science.* – 1999. – Vol. 285. – P. 248–251.

163. *Gardella S., Andrei C., Ferrera D.* et al. The nuclear protein HMGB-1 is secreted by monocytes via non-classical, vesicle-mediated secretory pathway // *EMBO Rep.* – 2002. – Vol. 3. – P. 995-1001.
164. *Ulloa L., Ochani M., Yang H.* et al. Ethyl pyruvate prevents lethality in mice with established lethal sepsis and systemic inflammation // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2002. – Vol. 99. – P. 12351-12356.
165. *Ulloa L., Fink M. P., Tracey K. J.* Ethyl pyruvate protects against lethal systemic inflammation by preventing HMGB-1 release // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2003. – Vol. 987. – P. 319-321.
166. *Wang H., Liao H., Ochani M.* et al. Cholinergic agonists inhibit HMGB-1 release and improve survival in experimental sepsis // *Nat. Med.* – 2004. – Vol. 10. – P. 1216-1221.
167. *Liu S., Stolz D. B., Sappington P. L.* et al. HMGB-1 is secreted by immunostimulated enterocytes and contributes to cytomix-induced hyperpermeability of Caco-2 monolayers // *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* – 2005. – Vol. 290. – P. C990-C999.
168. *Jiang W., Li J., Gallowitsch-Puerta M.* et al. The effects of CpG DNA on HMGB1 release by murine macrophage cell lines // *J. Leukoc. Biol.* – 2005. – Vol. 78. – P. 930-936.
169. *Crouser E. D., Shao G., Julian M. W.* et al. Monocyte activation by necrotic cells is promoted by mitochondrial proteins and formyl peptide receptors // *Crit. Care Med.* – 2009. – Vol. 37 (6). – P. – 2000-2009.
170. *Tang D., Shi Y., Kang R.* et al. Hydrogen peroxide stimulates macrophages and monocytes to actively release HMGB1 // *J. Leukoc. Biol.* – 2007. – Vol. 81 (3). – P. 741-747.
171. *Abraham E., Arcaroli J., Carmody A.* et al. Cutting edge: HMGB-1 as a mediator of acute lung inflammation // *J. Immunol.* – 2000. – Vol. 165. – P. 2950-2954.
172. *Kim J. Y., Pork J. S., Strassheim D.* et al. HMGB-1 contributes to the development of acute lung injury after hemorrhage. – 2005. – Vol. 288. – P. L958-L965.
173. *Sappington P. L., Yang R., Yang H.* et al. HMGB-1 B box increases the permeability of Caco-2 enterocyte monolayers and impairs intestinal barrier function in mice // *Gastroenterol.* – 2002. – Vol. 123. – P. 790-802.
174. *Zetterstrom C., Bergman T., Rynnel-Dag B.* et al. High mobility group box chromosomal protein 1 (HMGB1) is an antibacterial factor produced by human adenoid // *Pediatr. Res.* – 2002. – Vol. 52 (2). – P. 148-154.
175. *Mantell L. L., Parrish W. R., Ulloa L.* HMGB-1 as a therapeutic target for infectious and inflammatory disorders // *Shock.* – 2006. – Vol. 25 (1). – P. 4-11.
176. *Kwon W. Y., Suh G. J., Kim K. S.* et al. Gluyamone attenuates acute lung injury by inhibition of high mobility group box protein-1 *Brit. // J. Nutr.* – 2010. – Vol. 103. – P. 890-898.
177. *Плужников Н. Н., Ченур С. В., Покровская Л. А.* и др. Судорожный электрогенез: фундаментальные и прикладные проблемы // *Актуальные проблемы и перспективы развития военной медицины.* – СПб., 2002. – Т. 3. – С. 197-217.
178. *Либрович Н. Б., Сагун В. П., Соколов Н. Д.* Колебательный спектр гидратированного протона // *Теор. эксперимент. химия.* – 1978. – Vol. 14 (3). – P. 435-446.
179. *Arora S.* Cutaneous reactions in nuclear, biological and chemical warfare // *Indian J. Dermatol. Venerol. Leprol.* – 2005. – Vol. 71 (2). – P. 80-86.
180. *Ghanei M., Poursaleh Z., Harandi A. A.* et al. Acute and chronic effects of sulfur mustard on the skin: a comprehensive review // *Cut. Ocular Toxicol.* – 2010. – Vol. 29 (4). – P. 269-277.

181. *Papirmeister B., Gross C. L., Meier H. L. et al.* Molecular basis for mustard-induced vesication // *Fund. Appl. Toxicol.* – 1985. – Vol. 5. – P. S134–S149.
182. *Smith W. J.* Vesicant agents and antivesicant medical countermeasures: clinical toxicology and psychological implications // *Military Psychology.* – 2002. – Vol. 14 (2). – P. 145–157.
183. *Gracham J. S., Bryant M. A., Brave E. H.* Effect of sulfur mustard on mast cells in hairless guinea pig skin // *Cut. Ocular. Toxicol.* – 1994. – Vol. 13 (1). – P. 47–54.
184. *Edston E., van Hage-Hamsred M.* Mast cell tryptase and hemolysis after trauma // *Forens. Sci. Intern.* – 2003. – Vol. 131 (1). – P. 8–13.
185. *Shrman M. A.* The role of mast cells in bacterial enteritis // *Am. J. Pathol.* – 2007. – Vol. 171 (2). – P. 399–402.
186. *Misery L., Stander S.* Itch eds.: Misery L., Stander S. Pruritus. – London: Springer, 2009.
187. *Artuc M., Hermes B., Steckelings U. M. et al.* Mast cells and their mediators in cutaneous wound healing – active participants or innocent bystander? // *Exp. Dermatol.* – 1999. – Vol. 8 (1). – P. 1–16.
188. *Lumpkin E. A., Caterina M. J.* Mechanisms of the sensory transduction in the skin // *Nature.* – 2007. – Vol. 445 (7130). – P. 858–865.
189. *Wormser U., Sintov A., Brodsky B., Nyska A.* Topical iodine preparation as therapy against sulfur mustard-induced skin lesions // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2000. – Vol. 169. – P. 33–39.
190. *Lenz A., Franklin G. A., Cheadle W. G.* Systemic inflammation after trauma Injury. – 2007. – Vol. 38 (12). – P. 1336–1345.
191. *McClintock S. D., Till G. O., Smith M. G., Ward P. A.* Protection from half-mustard-gas-induced acute lung injury in the rat // *J. Appl. Toxicol.* – 2002. – Vol. 22. – P. 257–262.
192. *Ricketts K. M., Santai C. T., France J. A. et al.* Inflammatory cytokine response in sulfur mustard-exposed moose skin // *J. Appl. Toxicol.* – 2000. – Vol. 20 (1). – P. S73–S76.
193. *Sabourin C. L., Danne M. M., Buxton K. L. et al.* Cytokine, chemokine, and matrix metalloproteinases response after sulfur mustard injury to weanling pig skin // *J. Biochem. Mol. Toxicol.* – 2002. – Vol. 16. – P. 263–272.
194. *Atkins K. B., Lodhi I. J., Hurley L. L., Hinshaw D. B.* N-acetylcysteine and endothelial cell injury by sulfur mustard // *J. Appl. Toxicol.* – 2000. – Vol. 20 (1). – P. S125–S128.
195. *Chatterjee D., Mukherjee S., Smith M. G., Das S. K.* Signal transduction events in lung injury induced by 2-chloroethyl ethyl sulfide, a mustard analog // *J. Biochem. Mol. Toxicol.* – 2003. – Vol. 17. – P. 114–121.
196. *Arroyo C. M., Burman D. L., Kahler D. W. et al.* TNF-alpha expression patterns as potential molecular biomarker for human skin cells exposed to vesicant chemical warfare agents: sulfur mustard (HD) and Lewisite (L) // *Cell. Biol. Toxicol.* – 2004. – Vol. 20. – P. 345–359.
197. *Ewaschuk J. B., Backer J. L., Churchill T. A. et al.* Surface expression of Toll-like receptor 9 is upregulated in intestinal epithelial cells in response to pathogenic bacterial DNA // *Infect. Immun.* – 2007. – Vol. 75 (5). – P. 2572–2579.
198. *Kehe K., Balszuweit F., Steiritz D., Thierman H.* Molecular toxicology of sulfur mustard-induced cutaneous inflammation and blistering *Toxicol.* – 2009. – Vol. 263 (1). – P. 12–19.

199. Herouy Y. Matrix metalloproteinases in skin pathology. — 2001. — Vol. 7. — P. 3–12.
200. Shakarjian M. P., Bhatt P., Gordon M. K. et al. Preferential expression of matrix metalloproteinase-9 in mouse skin after sulfur mustard exposure // *J. Appl. Toxicol.* — 2006. — Vol. 26. — P. 239–246.
201. Vivant-Horwitz V., Amir A., Cohen L. et al. Involvement of matrix metalloproteinases in the cutaneous and ocular response to sulfur mustard Proceedings of the 2008 Medical Defense Bioscience Review. — Maryland: US Army Medical Research and Materiel Command, 2008. — P. 155.
202. Dachir S., Cohen M., Fishbeine E. et al. Characterization of acute and long-term sulfur-mustard-induced skin injuries in hairless guinea-pigs using non-invasive methods // *Skin Res. Technol.* — 2010. — Vol. 16 (1). — P. 144–124.
203. Greenberg S., Kamath P., Pertali J. et al. Characterization of the initial response of engineered human skin to sulfur mustard // *Oxicol. Sci.* — 2006. — Vol. 90 (2). — P. 59–557.
204. Freedberg I. M., Tomic-Canic M., Komine M., Blumenberg M. Keratins and keratinocyte activation cycle // *J. Invest. Dermatol.* — 2001. — Vol. 116. — P. 633–640.
205. Steffensen B., Hakkinen L., Larjava H. Proteolytic events of wound-healing-coordinated interactions among matrix metalloproteinases (MMPs), integrins, and extracellular matrix molecules // *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* — 2001. — Vol. 12. — P. 373–398.
206. Jablonka E., Lamb M. J. Evolution in four dimensions: genetic, epigenetic, behavioral, and symbolic variation in the history of life. — MIT Press, 2005. — P.113–154.
207. Yang X. J., Seto E. HATs and HDACs: from structure, function and regulation to novel strategies for therapy and prevention // *Oncogene.* — 2007. — Vol. 26. — P. 5310–5318.
208. McLachlan J. A., Burow M., Chiang T. C., Li S. F. Gene imprinting in developmental toxicology: a possible interface between physiology and pathology // *Toxicol. Lett.* — 2001. — Vol. 120. — P. 161–164.
209. Bombail V., Moggs J. G., Orphanides G. Perturbation of epigenetic status by toxicant // *Toxicol. Lett.* — 2004. — Vol. 149:51–58.
210. Jiang Y. H., Bressler J., Beaudet A. L. Epigenetic and human disease // *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* — 2004. — Vol. 5. — P. 479–510.
211. Bronner C., Chataigneau T., Schini-Kerth V. B., Landry Y. The «Epigenetic Code Replication Machinery», ECREM: a promising target of the epigenetic cell memory // *Curr. Med. Chem.* — 2007. — Vol. 14. — P. 2629–2641.
212. Coward W. R., Watts K., Feghali-Bostwick C. A. et al. Repression of IP-10 by interactions between histone deacetylation and hypermethylation in idiopathic pulmonary fibrosis // *Mol. Cell Biol.* — 2010. — Vol. 30 (12). — P. 2874–2886.
213. Yaren H., Mollaoglu H., Kurt B. et al. Lung toxicity of nitrogen mustard may be mediated by nitric oxide and peroxynitrite in rats // *Res. Vet. Sci.* — 2007. — Vol. 83. — P. 116–122.
214. Chien Y. H., Bau D. T., Jan K. Y. Nitric oxide inhibits DNA-adduct excision in nucleotide excision repair // *Free Radic. Biol. Med.* — 2004. — Vol. 36. — P. 1011–1017.
215. Demicheli V., Quijano C., Alvarez B., Radi R. Inactivation and nitration of human superoxide dismutase (SOD) by fluxes of nitric oxide and superoxide // *Free Radic. Biol. Med.* — 2007. — Vol. 42. — P. 1359–1368.

216. *Pacher P., Beckman J. S., Liadet L.* Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease // *Physiol. Rev.* – 2007. – Vol. 87. – P. 315–424.
217. *Korkmaz A., Yaren H., Kunak Z. I.* et al. Epigenetic perturbations in the pathogenesis of mustard toxicity; hypothesis and preliminary results // *Interdis. Toxicol.* – 2008. – Vol. 1 (3–4). – P. 236–241.
218. *Balali-Mood M., Hefazi M., Mahmoudi M.* et al. Long-term complications of sulfur mustard poisoning in severely intoxicated Iranian veterans // *Fundam. Clin. Pharmacol.* – 2005. – Vol. 19. – P. 713–721.
219. *Shahin S., Cullinane C., Gray P.* Mitochondrial and nuclear DNA damage induced by sulfur mustard in keratinocytes // *Chem. Biol. Interact.* – 2001. – Vol. 138 (3). – P. 231–245.
220. *Martens M. E.* Mechanisms of mitochondrial dysfunction induced by sulfur mustard in human epidermal keratinocytes (HEK) // *FASEB J.* – [www.fasebj.org/cgi/content/meeting\\_abstract/24/1../511.2](http://www.fasebj.org/cgi/content/meeting_abstract/24/1../511.2)
221. *Gould N. S., White C. W., Day B. J.* A role for mitochondrial oxidative stress in sulfur mustard analog 2-chloroethyl ethyl sulfide-induced lung cell injury and antioxidant protection // *J. Pharm. Exp. Ther.* – 2009. – Vol. 328 (3). – P. 732–739.
222. *Moser J., Meier H.* Comparison of cell size in sulfur mustard-induced death of keratinocytes and lymphocytes // *J. Appl. Pxicol.* – 2001. – Vol. 20 (1). – P. S23–S30.
223. *Kan R. K., Pleva C. M., Hamilton T. A.* et al. Sulfur mustard-induced apoptosis in hairless guinea pig skin // *Toxicol. Pathol.* – 2003. – Vol. 31 (2). – P. 185–190.
224. *Ray R., Hauck S., Kramer R., Benton B.* A convenient fluorometric method to study sulfur mustard-induced apoptosis in human epidermal keratinocytes monolayer microplate culture // *Drug Chem. Toxicol.* – 2005. – Vol. 28 (1). – P. 105–116.
225. *Steinritz D., Emmeler J., Hintz M.* et al. Apoptosis in sulfur mustard treated A549 cell cultures // *Life Sci.* – 2007. – Vol. 80 (24–25). – P. 2199–2201.
226. *Sun J., Wang Y. X., Sun M. J.* Apoptosis and necrosis induced by sulfur mustard in HeLa cells // *Zhongguo Yao Li Xue Bao.* – 1999. – Vol. 40. – P. 445–448.
227. *Knott E. M., Sun J., Lei Y.* et al. Pyruvate mitigates oxidative stress during reperfusion of cardioplegia-arrested myocardium *Ann. Thorac. Surg.* – 2006. – Vol. 81. – P. 928–934.
228. *Mallet R. T., Sun J., Knott E. M.* et al. Metabolic cardioprotection by pyruvate: recent progress // *Exp. Biol. Med.* – 2005. – Vol. 230. – P. 435–443.
229. *Ying W., Chen Y., Alano C. C., Swanson R. A.* Tricarboxylic acid cycle substrates prevent PARP-mediated death neurons and astrocytes // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* – 2002. – Vol. 22. – P. 774–779.
230. *Lim S. C., Choi J. E., Kim C. H.* et al. Ethyl pyruvate induces necrosis-to-apoptosis switch and inhibits high mobility group box protein 1 release in A549 lung adenocarcinoma cells *Int. J. Mol. Med.* – 2007. – Vol. 20 (2). – P. 187–192.
231. *Cecchini G., Schroder I., Gunsalus R. P., Maklashina E.* Succinate dehydrogenase and fumarate reductase from *Escherichia coli* // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2002. – Vol. 1553 (1–2). – P. 140–157.
232. *Yankovskaya V., Horsefield R., Tornroth S.* et al. Architecture of succinate dehydrogenase and reactive oxygen species generation // *Science.* – 2003. – Vol. 299 (5607). – P. 700–704.
233. *Cimen H., Han M.-J., Yang Y.* et al. Regulation of succinate dehydrogenase activity by SIRT3 in mammalian mitochondria // *Biochem.* – 2010. – Vol. 49 (2). – P. 304–311.



## ГЛАВА 5. СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ ОСТРОЙ АНГИНЫ (ОСТРОГО ТОНЗИЛЛИТА)

Изобретение (Патент РФ 2456986 от 26.04.2010 г.) относится к области медицины, а именно к оториноларингологии, и касается лечения острой ангины.

Воспаление небных миндалин — ангина — одно из самых распространенных заболеваний в мире [1]. При общей заболеваемости населения тонзиллитами, достигающей 35% (по данным комплексной проверки поликлиник Москвы), на долю острых ангин в структуре распространенности заболеваний глотки приходится 9% случаев [2]. Отличаясь сезонностью, наиболее часто (в 70–80% случаев) поражая лиц в возрасте 17–30 лет [3], острая ангина занимает одну из лидирующих позиций как причина временной нетрудоспособности [4]. Различают следующие формы острых ангин (банальных): катаральная, лакунарная, фолликулярная, фибринозная, некротическая и флегмонозная. С катаральных изменений начинаются все другие клинические варианты острых ангин. То есть, острая катаральная ангина может быть как самостоятельной клинической формой, так и начальным проявлением возникновения других вариантов воспалительных заболеваний небных миндалин [5]. Тонзиллярная патология значима и в связи с тем, что острые ангины тесно ассоциированы с так называемыми тонзиллогенными заболеваниями (острая ревматическая лихорадка, гломерулонефрит, миокардит, женское бесплодие и др.) [6–10]. Эти данные свидетельствуют о том, что воспалительные заболевания небных миндалин представляют собой актуальную проблему клинической медицины и организации здравоохранения [2, 11]. Продолжают оставаться злободневными вопросы разработки патогенетически обоснованных подходов к терапии, поиска средств и методов лечения острых ангин. Предложено и апробировано множество способов лечения острых тонзиллитов [12].

Известен способ терапии острых ангин, предусматривающий использование водного раствора инсулина путем инстилляций в нос и аппликации в рот на 30 мин в составе увлажненной ватки. Применение инсулина стимулирует активность лимфоцитов, что сопровождается восстановлением местной иммунореактивности и устранением проявлений воспаления небных миндалин [13].

Описано применение для лечения острых ангин препарата, содержащего смесь натриевых солей ацетата, пропионата и бутирата в определенном соотношении, оказывающего антибактериальное и противовоспалительное действие. Препарат в виде 1% водного раствора назначается для полоскания горла в течение трех дней по шесть раз в сутки [14].

В качестве способа лечения острых ангин предложен лазерофорез (гелий-неоновым лазером при длине волны 630 нм) эмоксипина в лакунах небных миндалин. Курсовое применение (5–7 процедур) лазерофореза эмоксипина обеспечивает лечебный эффект [15].

Описано применение кальция глицерофосфата при лечении острых ангин, способствующее сокращению сроков выздоровления [16].

Предложено множество способов терапии острых тонзиллитов в рамках китайской традиционной медицины, предполагающих использование различных ингредиентов растительного и животного происхождения, малодоступных и не имеющих разрешения к применению в России [Патенты: CN 101095766;

CN 1911408; CN 1911309; CN 1759878; CN 101204422; CN 101095762; CN 101317922; CN 101077379; CN 101721603; CN 101843861; CN 101810642; CN 101721603; CN 101683424].

Однако всем известным способам-аналогам присущ принципиальный недостаток: ни один из них не влияет на носительство патогенов бактериальной, вирусной природы и не стимулирует колонизацию симбионтами слизистой оболочки ротоглотки.

Наиболее близким по технической сущности к заявляемому изобретению является традиционный, общепринятый способ лечения острых ангин с курсовым применением лекарственных препаратов: В-лактамных антибиотиков (амоксциллин 1,5 г в три приема; или феноксиметилпенициллин 1,5 г в три приема; или амоксициллин/клавуланат 0,625 г в три приема), а при их непереносимости — макролидов (азитромицин 0,5 г в первый день и 0,25 г в последующие дни в один прием; или рокситромицин 0,3 г в два приема) в течение десяти дней. Курсовая антибиотикотерапия дополняется полосканием горла три-четыре раза в сутки раствором антисептика (фурацилин — 4 таблетки на стакан воды, диоксидин — 10 мл 1% раствора на стакан воды, перманганат калия — бледно-розовый раствор) и назначением витаминов (аскорбиновая кислота, витамины группы В) на фоне обильного питья.

Недостатки способа-прототипа:

- 1) в 25–40% случаев антибиотикотерапия острых ангин оказывается неэффективной по причине разрушения пенициллинов В-лактамазами, в силу внутриклеточной персистенции патогенов либо образования бактериальных биофильмов, а также в случаях вирусной, грибковой природы инфекционного агента [17–19];
- 2) антибиотики и антисептики, оказывая антибактериальное действие, способствуют углублению и консервации дисбиотического состояния слизистой оболочки ротоглотки [20];
- 3) лечение острых ангин по способу-прототипу не предотвращает хронизации воспалительного процесса в небных миндалинах [20].

Цель изобретения — повышение эффективности терапии острых ангин путем применения способа лечения, позволяющего сократить срок лечения, подавить вегетирование патогенов бактериальной и вирусной природы и стимулировать рост симбионтных микроорганизмов на поверхности небных миндалин.

Данная цель достигается тем, что курсом в течение трех-четырех дней на фоне ежедневного трехкратного приема внутрь мексидола в таблетках по 0,125 г, ежедневного однократного перорального введения витаминов D<sub>3</sub> в дозе 4000 МЕ (100 мкг), В<sub>12</sub> в дозе 200 мкг, назначают последовательное полоскание горла вначале 0,1% раствором пероксида водорода, а через 15 мин осуществляют повторное полоскание горла 0,125% раствором новокаина в 0,5% растворе натрия тиосульфата. Каждое полоскание осуществляют в течение двух-трех минут, процедуру полосканий повторяют три-четыре раза в сутки. Используемые при реализации заявляемого способа лечения растворы лекарственных препаратов изготавливают непосредственно перед их применением. Раствор пероксида водорода (0,1%) получают при смешивании 1,0 мл 3% раствора пероксида водорода (официального) с 29,0 мл воды (30-кратное разведение); а 0,125% раствор новокаина в 0,5% растворе натрия тиосульфата получают при смешивании равных объемов 0,25% раствора новокаина (официального) и 1% раствора натрия

тиосульфата. 1% раствор натрия тиосульфата получают при смешивании 1,0 мл 30% раствора натрия тиосульфата (официального) с 29 мл воды (30-кратное разведение). Растворы для полоскания горла изготавливают в объеме 90,0–120 мл. Курсовое лечение острых ангин (острых тонзиллитов) путем использования лекарственных препаратов начинали не позже двадцати четырех часов с момента манифестации симптомов заболевания.

Острые ангины отличаются явно выраженной сезонностью и обязаны своим возникновением банальной патогенной микрофлоре (*Streptococcus pyogenes*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus* и т. п. [21, 22]), которая при определенных условиях способна активироваться и вызывать воспаление лимфоэпителиальных образований окологлоточного кольца Пирогова–Вальдейера. В качестве факторов нарушающих иммунореактивность и провоцирующих воспаление небных миндалин выступают общее переохлаждение, локальное переохлаждение и механическое травмирование миндалин, респираторные вирусы и гиповитаминоз. Считается, что проникая в толщу муциновой слизи, фиксируясь на цитоплазматической мембране эпителиальных клеток, болезнетворные микроорганизмы стимулируют экспрессию провоспалительных цитокинов и/или активируют систему комплемента, инициирующие воспалительную реакцию в ткани небных миндалин [23]. В качестве одного из основных факторов, определяющих возможность проникновения в ткань небных миндалин патогенов, способствующих возникновению тонзиллита, еще более шести десятилетий тому назад рассматривались локальные дефекты в эпителиальной выстилке крипт [24]. Действительно, при тонзиллитах в 30,9% случаев эпителиальный барьер крипт имеет явные нарушения целостности [25]. Вместе с тем при всем многообразии обнаруженных и описанных феноменов, наблюдающихся при острых ангинах, целостной картины патогенеза данной патологии не складывается [21, 26].

В связи с этим в качестве базиса нового способа лечения острых ангин, предлагается новое видение патогенеза острых тонзиллитов. Под влиянием неблагоприятных факторов (переохлаждение, механическое повреждение, высоко вирулентный патоген вирусной природы и т. п.) в ткани небных миндалин вполне вероятно возникновение мелких локальных зон цитолиза (некротическая гибель клеток герминативной зоны лимфоидных фолликулов, эпителиоцитов). Репаративное замещение паренхимы миндалин соединительной тканью [27] при повторяющихся острых ангинах можно рассматривать в качестве косвенного доказательства частичной некротизации ткани небных миндалин при каждом эпизоде острого воспаления. Неконтролируемый процесс некротической гибели клеток сопровождается разрушением находящихся в них митохондрий и выделением внутриклеточного содержимого в межклеточное пространство. Каждая клетка животного организма содержит от нескольких сотен до нескольких тысяч органелл данного типа [28, 29].

Митохондрии – внутриклеточные органеллы, являющиеся потомками древних эндосимбионтных бактерий [30], несущие в себе родовые признаки граммотрицательных прокариот. В частности, митохондриальная ДНК, как и ДНК бактерий, имеет неметирированные последовательно расположенные азотистые основания цитозин и гуанин (СрG-последовательности) [31]. В отличие от этого, в геноме эукариот цитозин СрG-динуклеотидов обычно метилирован [32]. Появление в межклеточной среде ткани небных миндалин фрагментов ДНК

митохондрий, содержащих неметилированные CpG-олигонуклеотиды, распознается рецепторами TLR9 (локализованы в лизосомах [33, 34]), воспринимается лимфоидными [35, 36], эпителиальными [37–39] клетками и полиморфноядерными нейтрофилами как присутствие (инвазия) бактерий и сопровождается их активированием [40]. Активирование клеток ткани небных миндалин фрагментами бактериальной (митохондриальной) ДНК проявляется стимулированием экспрессии провоспалительных медиаторов [37, 41, 42].

Другими структурными компонентами матрикса митохондрий, не встречающимися в физиологических условиях в цитозоле эукариотических клеток и биосредах многоклеточных организмов, которые характерны только для бактерий, являются формил-пептиды. Трансляция (синтез белков) в митохондриях, как и у прокариот, всегда начинается с особой, модифицированной аминокислоты — N-формилметионина. Эукариотическими клетками данная аминокислота при синтезе полипептидных цепей не используется, поэтому наличие N-формилметионина на конце полипептидной цепи — надежный индикатор присутствия бактерий. N-формилпептиды распознаются цитозольным рецептором FPR1 клеток иммунной системы (нейтрофилов), что резко стимулирует их функциональную активность [43, 44]. В последние годы формилпептидные рецепторы обнаружены и на цитоплазматической мембране эпителиальных клеток [45, 46].

Взаимодействие неметилированных CpG-содержащих фрагментов митохондриальной ДНК и формил-пептидов с рецепторами TLR9 и FPR1 соответственно сопровождается активированием фосфолипазы C, циклазы/гидролазы АДФ-рибозы и, как следствие, возрастанием в цитозоле клеток (нейтрофилов) содержания таких вторичных мессенджеров, как инозитол-1,4,5-трифосфат и циклическая АДФ-рибоза [47–49]. Положительная динамика инозитол-1,4,5-трифосфата и циклической АДФ-рибозы посредством модулирования проницаемости плазмомембранных  $Ca^{2+}$ -каналов обуславливает увеличение уровня ионов кальция в цитозоле клеток [31, 50]. Относительно небольшое количество ионов кальция («запальный» пул), проникшего в цитозоль извне, амплифицируется выделением внутриклеточного  $Ca^{2+}$  из цистерн эндоплазматического ретикулума через ионный канал рианодиновых рецепторов, высокочувствительных к уровню данного двухвалентного катиона [51, 52].

Повышение уровня цитозольного  $Ca^{2+}$  сопровождается стимуляцией активности фагоцитов [31, 50]. Активирование полиморфноядерных нейтрофилов при цитолизе опосредуется кальцинейрином — серин/треониновой фосфатазой, приобретающей фосфатазную активность под влиянием  $Ca^{2+}$ /кальмодулина [53, 54], обеспечивающего экспонирование активного центра каталитического домена энзима [55], и кальцийзависимыми киназами, трансформирующими ядерные факторы транскрипции в их активные формы [56–58]. Активация ядерных факторов транскрипции (AP-1, NF-AT, NF- $\kappa$ B, IRF-3) сопровождается стимулированием экспрессии:

- провоспалительных цитокинов (IL-1, IL-6, IL-10, IL-12, TNF, IFN $\gamma$ , IFN $\beta$ ), что проявляется повышением температуры тела, тахикардией, неврологической симптоматикой и повреждением эндотелия сосудов;
- хемокинов (IL-8, MIP-1/2, MCP-1/2), увеличивающих миграционную активность нейтрофилов и продукцию прооксидантов макрофагами;
- молекул адгезии (ICAM-1, VCAM-1, E-selectin), способствующих увеличению проницаемости эндотелиальной выстилки сосудов;

- факторов коагуляции (TF, PAI-1, Factor VIII), изменяющих состояние свертывающей системы крови;
- индуцибельной NO-синтазы, что сопровождается гиперпродукцией оксида азота.

Кроме того, стимулированные формил-пептидами и фрагментами митохондриальной ДНК, полиморфноядерные нейтрофилы обильно секретируют матриксные металлопротеиназы (ММП-8, ММП-10), субстратами которых являются биополимеры внеклеточного матрикса и ингибиторы секреторных протеиназ [59, 60]. Активированные фагоциты в пессимальном количестве генерируют прооксиданты, повреждающие структурные элементы сосудов и тканей [61].

Провоспалительные цитокины, в свою очередь, стимулируют синтез *de novo* фосфолипазы А2 и циклооксигеназы-2 (под влиянием IL-1, TNF $\alpha$  уровень мРНК циклооксигеназы-2 увеличивается в 40 раз) [62, 63]. В условиях повышенного уровня цитозольного кальция фосфолипаза А2 транслоцируется к внутриклеточным мембранам и селективно расщепляет фосфолипиды, в состав которых входит арахидоновая кислота [64, 65]. Арахидоновая кислота, выделяемая фосфолипазой А2 из sn-2 позиции фосфолипидов, цикло- и липоксигеназами быстро трансформируется в эйкозаноиды и свободнорадикальные продукты, способные в условиях воспалительной реакции оказывать повреждающее действие на клетки и ткани [66, 67]. Кроме того, арахидоновая кислота – ключевой патогенетический фактор разобщения окисления и фосфорилирования в митохондриях, набухания митохондрий и формирования митохондриальной поры транзитной проницаемости с выделением проапоптотических факторов [68, 69].

Высоко значимы для развития воспалительной реакции эффекты HMGB-1 (High Mobility Group Box-1 protein), который ранее рассматривался только как фактор транскрипции [70]. HMGB-1 спонтанно выделяется из клеток различных тканей при цитолизе [71, 72], экспрессируется клетками иммунной системы под влиянием внешних стимулов [73] и выполняет роль маркера некроза [74–76]. Митохондриальные антигены, прооксиданты также проявляют свойства индукторов секреции HMGB-1 клетками иммунной системы [77–80]. Под влиянием провоспалительных цитокинов (TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IFN $\gamma$ ), агонистов TLR-2 и TLR-5 HMGB1 обильно секретируют эпителиальные клетки [81] и эндотелиоциты [82, 83]. В отличие от цитокинов «раннего» провоспалительного ответа, HMGB-1 экспрессируется клетками после лаг-фазы длительностью до 12–24 часов после их стимуляции [84], что обеспечивает пролонгирование воспалительной реакции.

Значимый патогенетический аспект формирования симптомокомплекса воспаления небных миндалин – активация фактора ингибирования миграции макрофагов (MIF) под влиянием эндо- и экзотоксинов грамотрицательных и грамположительных бактерий, провоспалительных медиаторов (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , С5a), что проявляется подавлением экспрессии противовоспалительных цитокинов [85, 86] и стимулированием продукции провоспалительных факторов, Toll-подобных рецепторов фагоцитами [87]. Кроме того, MIF – протеин, продуцируемый клетками иммунной системы и ткани небных миндалин [88–90], обеспечивает поддержание жизнеспособности и функциональной гиперактивности (продукция прооксидантов и медиаторов воспаления) стимулированных макрофагов посредством блокирования механизмов апоптоза (индуцируемого респираторным взрывом) фагоцитирующих клеток [91]. Фактор ингибирования

миграции макрофагов, обладая таутомеразной и тиолоксидоредуктазной активностями, по-видимому, влияя на трансдукцию сигналов в клетках, способен модулировать физиологические эффекты множества медиаторов [92–94].

Закономерным результатом стимулирования клеток иммунной системы, эпителиоцитов, эндотелиоцитов митохондриальными антигенами выступает формирование выраженной воспалительной реакции, сопровождающейся избыточной продукцией прооксидантов. Активация процессов перекисного окисления липидов на фоне истощения антиоксидантной защиты организма – характерная черта воспаления нёбных миндалин [95]. Особую роль как в стимулировании бактериальной инфекции, так и в поддержании свободнорадикальных реакций играют ионы железа.

Содержание ионов железа в биосредах организма в физиологических условиях контролируется чрезвычайно эффективно и поддерживается на экстремально низком уровне –  $10^{-18}$  М [96]. Это делает ионы железа практически недоступными для патогенных микроорганизмов [97], для которых данный катион представляет собой фактор роста [98], определяющий экспрессию факторов вирулентности [99]. Однако на фоне избыточной продукции прооксидантов (супероксидного анион-радикала, в частности) гомеостатирование железа в зоне воспаления нарушается.

Известно, что супероксидный анион-радикал в отношении органических и неорганических химических соединений, в зависимости от их химической природы и физико-химических свойств, играет роль как окислителя ( $E^0 \text{O}_2^{\cdot-}/\text{H}_2\text{O}_2 = +0,89 \text{ В}$ ), так и восстановителя ( $E^0 \text{O}_2/\text{O}_2^{\cdot-} = -0,33 \text{ В}$ ) [100]. Восстановительные свойства супероксид-радикала, продуцируемого в пессимальном количестве при воспалительной реакции, реализуются, в частности, в восстановительном высвобождении ионов железа из их комплексов с биомакромолекулами. Например, в составе трансферрина и ферритина железо представлено только в форме ионов  $\text{Fe}^{3+}$ , которые под влиянием супероксидного анион-радикала восстанавливаются до  $\text{Fe}^{2+}$  и покидают указанные выше белки [101–103]. Лабелизации ионов железа при воспалении нёбных миндалин способствуют и катехоламины, секретлируемые клетками иммунной системы (лимфоцитами, фагоцитами) [104, 105]. Катехоламины обеспечивают выделение ионов железа из трансферрина и ферритина посредством прямого взаимодействия с ними и восстановления ионов данного металла переменной валентности [106]. Взаимодействие супероксидного анион-радикала, катехоламинов с трансферрином и ферритином, обогащая биосреды ионами железа, трансформирует их бактериостатическую природу в культуральную среду, стимулирующую вегетирование вирулентной микрофлоры [107, 108]. Например, вирулентность *Pseudomonas aeruginosa* в присутствии ионов железа может увеличиваться на пять порядков [109].

При воспалении содержание ионов железа увеличивается не только во внеклеточных жидкостях, но и в цитозоле клеток в зоне воспалительной реакции. В физиологических условиях, для поддержания предельно низкого уровня свободных катионов железа в цитозоле, эффективно функционирует механизм экспорта  $\text{Fe}^{3+}$  из клетки, обеспечиваемый ферропортином. Именно активность ферропортина резко ограничивает внутриклеточное вегетирование патогенов [110]. Однако при воспалении данный механизм гомеостатирования уровня железа в клетке может давать сбой. Под влиянием провоспалительных медиаторов в гепатоцитах, эпителиоцитах стимулируется экспрессия полипептида гепсидин

[111, 112]. Поступив во внеклеточную среду, гепцидин быстро и необратимо связывается с ферропортином цитоплазматической мембраны клеток, инициирует интернализацию и последующую деградацию ферропортин-гепцидинового комплекса в лизосомах [113, 114] и таким образом блокирует экспорт ионов железа из цитозоля. В ткани легких, миндалин, слюнных желез гепцидин экспрессируется на низком уровне конститутивно, что, по-видимому, следует расценивать как стратегию предупреждения персистенции патогенов [115].

Таким образом, независимо от природы инициирующего этиологического фактора (холодовая травма, механическое повреждение, вирулентный вирус) цепь причинно-следственных событий при возникновении воспалительной реакции в ткани небных миндалин с неизбежностью приводит к присоединению бактериальной инфекции. И поэтому подавление патогенной микрофлоры при ангинах представляет собой основное направление терапевтических усилий.

В качестве антибактериальных средств при лечении острых тонзиллитов традиционно используются антибиотики. Однако в силу разных причин (персистенция микроорганизмов внутри клеток [116, 117] вегетирование патогенов в составе бактериальных биофильмов [118–121], конститутивная антибиотикорезистентность или ассоциированность патогенного микроба с бактериями, продуцирующими ферменты, разрушающие антибиотики [122]), антибиотикотерапия часто оказывается неэффективной [117]. Вместе с тем известно, что патогенные бактерии, ассоциированные с воспалением небных миндалин, лизогенны, т. е. содержат в составе генома один или несколько профагов [123–125]. Профаги, обогащая геном микроорганизма, обеспечивают вариабельность свойств штаммов патогенных бактерий [126], часто кодируют факторы вирулентности [127] и наделяют способностью эффективно создавать бактериальные биофильмы [128]. Также хорошо известно, что пероксид водорода, как водорастворимое неполярное соединение, способен быстро диффундировать через биологические мембраны [129, 130], проникать в бактериальные биофильмы [131]. Воздействуя в милли-, микромолярном диапазоне концентраций (не оказывающих бактерицидного действия при экспозиции в десятки минут [132]) на лизогенные штаммы микроорганизмов, пероксид водорода стимулирует экспрессию комплекса энзимов экстренной репарации бактериальной ДНК (SOS-регулона) [133]. Индукция SOS-регулонов лизогенных патогенов сопровождается активацией их резидентных профагов, мультипликацией вирусных частиц и последующей гибелью бактерий [134], что может обеспечить весьма быстрый клиренс зоны воспаления от патогенной микрофлоры при острых тонзиллитах [134]. Одновременно в эукариотических клетках под влиянием пероксида водорода (как вторичного мессенджера [135]) наблюдается возрастание активности ядерных факторов транскрипции NF- $\kappa$ B, AP-1, сопровождающееся локальным увеличением резистентности ткани небных миндалин к воздействию неблагоприятных факторов [136]. Продукция  $H_2O_2$  в качестве бактерицидного агента, обеспечивающего дистантно контролируруемую индукцию профагов, — широко распространенная в мире бактерий стратегия вытеснения конкурентов из микроэкологических ниш [137–140]. Экспрессия  $H_2O_2$  симбионтной микрофлорой желудочно-кишечного тракта — действенный фактор колонизационной резистентности, обеспечивающий трансформацию профагов нерезидентных микроорганизмов в их литическую форму. Симбионтные лактобациллы и лактококки в условиях аэробной среды (приэпителиальная зона кишечной

трубки) флаavin-зависимым путем способны продуцировать пероксид водорода [141]. Поскольку молочнокислые бактерии относятся к группе каталаза-негативных микроорганизмов, постольку  $H_2O_2$  может аккумулироваться в среде вегетирования до аутоингибиторных концентраций [142]. Симбионтные штаммы молочнокислых бактерий являются носителями дефектных профагов, которые не способны трансформироваться в их литическую форму при индукции SOS-регулонов данных прокариот, поэтому они на порядок менее чувствительны к действию пероксида водорода, чем нерезидентные микроорганизмы (*Staphylococcus*, *Pseudomonas*) [143–146]. Следовательно, 0,01–0,03 М (0,03–0,1%) раствор пероксида водорода, не оказывая бактериостатического или бактерицидного действия на симбионтов слизистой оболочки ротоглотки и небных миндалин, не только не формирует (не усугубляет) микробиологических нарушений, но и способствует восстановлению эубиоза путем элиминации нерезидентных бактерий. Значимо, что элиминации подвергаются как внутриклеточные патогены (ликвидируется резервуар инфекции), так и микроорганизмы, персистирующие в составе бактериальных биофильмов. Также важно, пероксид водорода не стимулирует экспрессию фактора ингибирования миграции макрофагов, других провоспалительных цитокинов клеточными элементами слизистой оболочки дыхательных путей (в отличие от других тканей) [147], играет роль аттрактанта для лейкоцитов, что способствует скорейшему разрешению воспалительной реакции [148].

Новокаин, попадая на слизистую оболочку ротоглотки, частично всасывается, оказывая слабое местное анестезирующее действие, и относительно быстро гидролизуется, распадаясь на парааминобензойную кислоту и диэтиламиноэтанол [149]. Парааминобензойная кислота (витамин  $B_{10}$ ) представляет собой «фактор роста» для представителей симбионтной микрофлоры [150]. Стимуляция роста симбионтной микрофлоры сопровождается подавлением вегетирования нерезидентных микроорганизмов [151]. Кроме того, парааминобензойная кислота — эффективное противовирусное средство, являясь индуктором интерферона [152], способна оказывать нормализующее воздействие на обмен в соединительной ткани и оптимизировать усвоение других витаминов группы В. Новокаин, как предшественник парааминобензойной кислоты, в организме человека также проявляет свойства индуктора интерферона [153].

Натрия тиосульфат, будучи восстановителем, проникая в ткань небных миндалин, способен эффективно играть роль стехиометрического антиоксиданта [154], восстанавливая пероксид водорода до воды предотвращать чрезмерную активацию ядерных факторов транскрипции и избыточную экспрессию генов раннего стрессорного ответа [135]. Кроме того, редуцируя дисульфидные связи между молекулами муцина, натрия тиосульфат облегчает удаление вязкой слизи с поверхности и из лакун миндалин.

Мексидол (эмоксипина сукцинат) достаточно давно известен и с успехом применяется в терапии критических состояний [155]. Эмоксипина сукцинат имеет широкий спектр фармакологической активности: является антигипоксическим, стресспротективным, ноотропным, противосудорожным и анксиолитическим средством, эффективно ингибирующим свободнорадикальное окисление липидов. Данный лекарственный препарат оказывает противовоспалительное действие, улучшает микроциркуляцию и стимулирует репаративно-регенераторные процессы. Столь широкая палитра фармакологической



активности мексидола (эмоксипина сукцината) обусловлена способностью препарата стимулировать сукцинатоксидазное окисление (компенсаторный путь синтеза АТФ) [156], фосфорилироваться в биологических системах и оказывать ингибирующее воздействие на сериновые, металлозависимые протеиназы [157], а также хелатировать ионы железа, исключая тем самым каталитическую продукцию прооксидантов с участием данного иона металла переменной валентности [158].

Важный аспект фармакологической активности эмоксипина сукцината — способность продуктов биотрансформации данной субстанции ингибировать различные протеиназы. Это, с одной стороны, обуславливает противовоспалительные и ротивоаллергические эффекты мексидола (эмоксипина сукцината), а с другой — может предопределять и противовирусную активность данного лекарственного средства. Известно, например, что для проникновения вируса гриппа А человека в клетку необходим процессинг гликопротеинов оболочки вирусной частицы, который осуществляется секреторными лейкопротеиназами (трипсин-подобными протеиназами) [159]. Естественно, что при ингибировании секреторных протеиназ фосфорилированным производным эмоксипина возможно снижение вирулентности вируса гриппа А человека, т. е. подавление процесса интернализации и, следовательно, мультициклической репликации данного ДНК-вируса. Кроме того, твердо установлено, что воспалительная реакция обеспечивает и поддерживает в зоне воспаления присутствие свободных ионов железа, которые, помимо прочего, играют роль «фактора роста» для патогенной микрофлоры [160]. Естественно ожидать, что локальное снижение уровня свободных ионов железа в ткани нёбных миндалин под влиянием фосфорилированных производных мексидола (эмоксипина сукцината), способных хелатировать ионы железа, будет проявляться в виде бактериостатических эффектов. Вероятно, именно противовирусные и бактериостатические проявления фармакологической активности метаболитов эмоксипина могут быть приняты в качестве объяснения эффективности мексидола (эмоксипина сукцината) в качестве средства терапии хронического фарингита [161], лечения и профилактики пневмоний при острых экзогенных отравлениях [162].

Адгезионные свойства бактерий определяются палитрой углевод-связывающих белков клеточной стенки микроорганизма и зависят от спектра гликановой декорации полипептидных цепей муцина и цитоплазматической мембраны эукариотических клеток [163–165]. Для обеспечения колонизационной резистентности индигенные микроорганизмы оказывают влияние на профиль спектра лектинов, экспрессируемых эпителиоцитами [166]. Вместе с тем известно, что структура цепей гликополимеров (в отличие от полипептидов) не кодируется в геноме, а определяется паттерном экспрессии и активности гликозилтрансфераз, участвующих в синтезе полисахаридов. Тем не менее качественно-количественные характеристики гликанов, синтезируемых в организме млекопитающих, видоспецифичны и индивидуальны для каждого организма, т. е. спектр экспрессируемых гликанов все же находится под жестким контролем. В данной связи следует обратить внимание на то, что фенотип отдельной клетки и многоклеточного организма в целом определяется, главным образом, внегеномной частью ДНК (не содержащей информации об аминокислотных последовательностях полипептидных цепей), управляющей экспрессией генов [167]. Эпигенетическое управление экспрессией генов, соответственно современным

представлениям, включает механизмы метилирования ДНК [168, 169], различные обратимые ковалентные модификации структуры гистонов хроматина: фосфорилирование, убиквитинирование, ацетилирование, метилирование, сумоилирование, АДФ-рибозилирование, гликозилирование [170, 171] и регуляторные эффекты различных некодирующих РНК (miRNAs, piRNAs, esiRNAs), блокирующих экспрессию генов [172, 173]. Считается, что эпигенетическая наследственная система менее стабильна, чем геном, и более чувствительна к различным возмущающим влияниям [174]. Постепенно приходит понимание того, что эпигенетическое перепрограммирование — ключевой патогенетический механизм многих заболеваний [175, 176].

Лимитирующим звеном процессов метилирования ДНК и гистонов хроматина в условиях витамин В<sub>12</sub>-дефицитных состояний может становиться метионин. Метионин, главный донор метильных групп в организме, — незаменимая аминокислота, синтезируется из ее деметилированной формы гомоцистеина при участии витамин В<sub>12</sub>-зависимого фермента — метионин-синтазы [177–179]. Если учитывать распространенность В<sub>12</sub>-гиповитаминоза [180, 181], то ассоциированность данного витамина с формированием/поддержанием микробиологического дисбаланса слизистой оболочки ротоглотки, опосредованных модулированием эпигенетической регуляции экспрессии факторов колонизационной резистентности при метионин-дефиците, в конечном итоге способствующем возникновению воспаления небных миндалин, становится весьма вероятной.

Исходя из того, что, даже без участия специфического механизма трансфера (фактора Кацла), около 1% от общего количества цианокобаламина, поступившего в кишечник, успешно абсорбируется, при лечении острых ангиин ежедневно однократно внутрь назначали витамин В<sub>12</sub> в дозе 200 мкг. Физиологическая суточная потребность в витамине В<sub>12</sub> человека составляет всего 1,0–1,25 мкг/день, поэтому пероральное поступление цианокобаламина в дозе 200 мкг/день адекватно восполнило запрос организма [182].

Только в последнее десятилетие стала проясняться плеiotропность физиологических эффектов витамина D<sub>3</sub> (кальцитриола) и, в частности, его роль в осуществлении защитных функций эпителиальных барьеров [183]. Выявлены новые аспекты (ассоциированные с кальцитриолом) участия в реализации этих протективных функций симбионтных микроорганизмов [184]. Установлено, в частности, что эпителиоциты при контакте с нерезидентными микроорганизмами потенциально способны резко увеличить экспрессию таких полипептидных факторов защиты, как кателицидин и дефензин-β<sub>2</sub>, обладающих широким спектром противомикробного действия, активных в отношении многих вирусов, грибков и отличающихся способностью нейтрализовать липополисахарид (эндотоксин) грамотрицательных бактерий [185, 186]. Кателицидин, помимо прочего, стимулирует ангиогенез и митотическую активность клеток, способствует поддержанию структурно-функциональной полноценности эпителиальных барьеров [187]. Однако эти защитные реакции эпителиоцитов эффективно реализуются только в присутствии активной формы витамина D<sub>3</sub>. Превращение 25-гидроксивитамина D<sub>3</sub> в его активную форму (1α,25 (ОН)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) катализируется 1α-гидроксилазой CYP27B1, а катаболическая трансформация 1α,25 (ОН)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> осуществляется при участии монооксигеназы CYP24A1 [188]. Экспрессия данных изоформ цитохрома P-450 (CYP27B1, CYP24A1), рецептора витамина D<sub>3</sub> контролируется эпигенетическими регуляторными механизмами

[189, 190]. В физиологических условиях активная форма витамина D<sub>3</sub> (1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) аутокринно-паракринным образом участвует в регуляции пролиферации, дифференциации и апоптозе эпителиоцитов [188]. *In vivo* оптимальный уровень активности энзимов (синтеза и катаболизма) витамин D<sub>3</sub>-зависимой регуляторной системы в эпителиальных клетках индуцируется только при контакте микроорганизмов с соответствующими рецепторами распознавания эпителиоцитов (симбионтные микроорганизмы стимулируют поддержание фоновой 1 $\alpha$ -гидроксилазной активности клеточных элементов эпителиальных барьеров) [191]. Иммуномодулирующее действие 1,25-дигидроксивитамина D<sub>3</sub> опосредуется его рецепторами и осуществляется посредством влияния на активность факторов транскрипции NF-AT и NF-kB либо реализуется при взаимодействии лиганд-рецепторного комплекса с воспринимающими витамин D<sub>3</sub> элементами промоторных областей генов. В условиях витамин D<sub>3</sub>-дефицита подавляется продукция антибактериальных пептидов клеточными элементами слизистых барьеров, что, например, проявляется 50-кратным увеличением показателя бактериальной обсемененности ткани кишечной стенки [192]. При использовании витамина D<sub>3</sub> в программе терапии острых ангин значимы и антиоксидантные эффекты кальцитриола. Витамин D<sub>3</sub>, стимулируя генную экспрессию глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (ключевой фермент пентозофосфатного пути окисления глюкозы), обеспечивающей редуцирование пиридинового нуклеотида [NAD (P)+] в цитозоле клеток, способствует быстрому восстановлению окисленных форм водо- и жирорастворимых антиоксидантов. То есть витамин D<sub>3</sub>, интенсифицируя процесс рециклизации антиоксидантов, увеличивает их относительную антирадикальную емкость, поддерживая тем самым активность системы неферментативного гашения свободнорадикальных реакций. Кроме того, 1,25-дигидроксивитамин D<sub>3</sub> существенным образом увеличивает уровень глутатиона в цитозоле клеток [193]. Именно поэтому, с учетом распространенности гиповитаминоза D<sub>3</sub> в осенне-зимний период среди населения умеренных широт [194] и ассоциированности функционального состояния эпителиальных барьеров с обеспеченностью организма кальцитриолом, назначение витамина D<sub>3</sub> в дозе 4000 МЕ (100 мкг), обеспечивающей суточную физиологическую потребность человека [195], представляется вполне целесообразным и необходимым при лечении острых ангин.

Все вышеизложенное позволило предположить, а в последующем и подтвердить быстрое наступление клинического эффекта при лечении острых ангин заявляемым способом (табл. 7). Как видно из таблицы, через двое суток после начала терапии острых ангин заявляемым способом ни один больной не предъявлял жалоб на боли в горле. К данному сроку не было и локальных признаков воспаления небных миндалин. При лечении острых ангин по способу-прототипу жалобы на болевые ощущения больные предъявляли и на пятые сутки после начала терапии.

Объективными неспецифическими показателями выраженности воспалительного процесса и интоксикации при острых ангинах считаются уровень малонового диальдегида и содержание среднемолекулярных пептидов в плазме крови больных [95]. Уровень малонового диальдегида в плазме крови определяли по М. Michara и М. Uchiyama (1978) [196]. Содержание среднемолекулярных пептидов в плазме крови определяли по В. В. Николаичуку и соавт. [197] в модификации М. И. Габриловича [198].

**Динамика интенсивности болевых ощущений в горле  
у больных острой ангиной при лечении заявляемым способом  
и по способу прототипу**

Способ лечения	Интенсивность боли в горле по дням терапии, баллы					
	0	1	2	3	4	5
Заявляемый способ (n=27)	2,55±0,19	1,65±0,15	0,45±0,05	—	—	—
Способ-прототип (n=25)	2,41±0,16	2,94±0,23	2,71±0,15	2,05±0,12	1,43±0,13	0,59±0,05
Достоверность различия	p>0,5	p<0,001	p<0,001	—	—	—

Объективными неспецифическими показателями выраженности воспалительного процесса и интоксикации при острых ангинах считаются уровень малонового диальдегида и содержание среднемолекулярных пептидов в плазме крови больных [95]. Уровень малонового диальдегида в плазме крови определяли по М. Michara и М. Uchiyama (1978) [196]. Содержание среднемолекулярных пептидов в плазме крови определяли по В. В. Николайчуку и соавт. [197] в модификации М. И. Габриловича [198].

Заявляемый способ лечения острых ангин обеспечивал более быстрое снижение уровня малонового диальдегида (табл. 8) и концентрации среднемолекулярных пептидов (табл. 9) в плазме крови больных. Как видно из табл. 8, уже на пятые сутки при лечении острых ангин заявляемым способом концентрация малонового диальдегида в плазме крови снижалась до уровня контрольных значений. При лечении острых ангин по способу-прототипу содержание малонового диальдегида продолжало оставаться повышенным и на десятые сутки после начала терапии. Как видно из табл. 9, при лечении острых ангин заявляемым способом содержание среднемолекулярных пептидов в плазме крови больных нормализовалось уже к пятым суткам после начала терапии, чего не наблюдалось в группе больных, получавших лечение по способу-прототипу.

Таблица 8

**Динамика уровня малонового диальдегида в плазме крови  
у больных острой ангиной при лечении заявляемым способом  
и по способу-прототипу**

Способ лечения	Уровень малонового диальдегида по дням терапии, мкмоль/л		
	1	5	10
Заявляемый способ (n=27)	2,7±0,24	1,4±0,06	1,4±0,05
Способ-прототип (n=25)	2,6±0,20	2,5±0,17	1,6±0,08
Достоверность различия	p>0,5	p<0,001	p<0,05

**Динамика содержания среднемoleкулярных пептидов в плазме крови  
у больных острой ангиной  
при лечении заявляемым способом  
и по способу-прототипу**

Способ лечения	Уровень среднемoleкулярных пептидов по дням терапии, ед. опт. пл.		
	1	5	10
Заявляемый способ (n=27)	2,22±0,08	1,17±0,05	1,20±0,04
Способ-прототип (n=25)	2,18±0,07	1,41±0,06	1,27±0,08
Достоверность различий	p<0,5	p<0,01	p<0,5

Для оценки влияния лечения острых ангин заявляемым способом и по способу-прототипу на носительство патогенов на нёбных миндалинах выполняли вирусологическое и микробиологическое исследования [199, 200]. Забор материала для исследования с поверхности нёбных миндалин производили до и после курса лечения при помощи стерильного ватного тампона, который затем помещали в транспортную среду Amies для доставки в лабораторию.

Заявляемый способ лечения острых ангин обеспечивал полную санацию поверхности нёбных миндалин от носительства ОРВИ (табл. 10). Как видно из табл. 10, лечение острых ангин по способу-прототипу не обеспечивало санации поверхности нёбных миндалин от патогенов вирусной природы.

Таблица 10

**Носительство патогенов вирусной природы  
на поверхности нёбных миндалин  
до и после лечения острой ангины заявляемым способом  
и по способу-прототипу**

Способ лечения	Носительство вирусов ОРВИ в группе, чел/%		Санация, крат
	до лечения	после лечения	
Заявляемый способ (n=27)	19/70	0/0	Полная
Способ-прототип (n=25)	18/72	14/56	1,29

Как видно из табл. 11, заявляемый способ лечения острых ангин обеспечивал резкое (более чем на порядок) сокращение распространенности носительства патогенов бактериальной природы на поверхности нёбных миндалин. В отличие от этого, лечение острых ангин по способу-прототипу мало влияло на носительство патогенов бактериальной природы на нёбных миндалинах. Практически не изменилась распространенность носительства *S. aureus*.

**Носительство патогенов бактериальной природы на поверхности  
нёбных миндалин до и после лечения острой ангины заявляемым способом  
и по способу-прототипу**

Способ лечения	Вид возбудителя	Носительство бактерий в группе, чел/‰		Санация, крат
		до лечения	после лечения	
Заявляемый способ (n=27)	<i>S. aureus</i>	6/22,2	—	Полная 13,0 14,0
	<i>S. pneumoniae</i>	13/48,1	1/3,7	
	<i>H. influenzae</i>	14/51,9	1/3,7	
Способ-прототип (n=25)	<i>S. aureus</i>	8/32,0	7/28,0	1,14
	<i>S. pneumoniae</i>	13/52,0	5/20,0	2,6
	<i>H. influenzae</i>	12/48,0	9/36	1,33

Таблица 12

**Колонизация поверхности нёбных миндалин  
индигенными микроорганизмами до и после лечения острых ангин  
заявляемым способом и по способу-прототипу**

Способ лечения	Вид бактерий	Колонизация миндалин, КОЭ/мл	
		до лечения	после лечения
Заявляемый способ (n=27)	<i>Lactobacterium spp</i>	$(0-0,8) \cdot 10^2$	$(0,9-9,9) \cdot 10^3$
	<i>Bifidobacterium spp</i>	$(0-0,8) \cdot 10^2$	$(0,9-5,1) \cdot 10^3$
Способ-прототип (n=25)	<i>Lactobacterium spp</i>	$(0-0,8) \cdot 10^2$	$(0-0,5) \cdot 10^2$
	<i>Bifidobacterium spp</i>	$(0-0,8) \cdot 10^2$	$(0-0,3) \cdot 10^2$

**Формула изобретения**

1. Способ лечения острой ангины (острого тонзиллита) путем курсового использования лекарственных препаратов, отличающийся тем, что в качестве лекарственных препаратов используют 0,1% раствор пероксида водорода, 0,125% раствор новокаина в 0,5% растворе натрия тиосульфата, мексидол (эмоксипина сукцинат) в таблетках по 0,125 г, витамины D<sub>3</sub> в дозе 4000 МЕ (100 мкг) и B<sub>12</sub> в дозе 200 мкг.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что растворы лекарственных препаратов изготавливают непосредственно перед их использованием путем 30-кратного разведения официальных 3% раствора пероксида водорода и 30% раствора натрия тиосульфата, полученный 1% раствор натрия тиосульфата затем смешивают с равным объемом официального 0,25% раствора новокаина.

3. Способ по п. 1, отличающийся тем, что растворы лекарственных препаратов используют для ежедневного трех-четырёхкратного последовательного полоскания горла вначале 0,1% раствором пероксида водорода в течение 2-3 мин,

а через 15 мин также в течение 2–3 мин полоскание горла осуществляют 0,125% раствором новокаина в 0,5% растворе натрия тиосульфата.

4. Способ по п. 1, отличающийся тем, что мексидол (эмоксипина сукцинат) назначают перорально трехкратно ежедневно в таблетках по 0,125 г.

5. Способ по п. 1, отличающийся тем, что витамины D<sub>3</sub> в дозе 4000 МЕ (100 мкг) и B<sub>12</sub> в дозе 200 мкг назначают перорально однократно ежедневно.

6. Способ по п. 1, отличающийся тем, что последовательное полоскание горла растворами лекарственных препаратов и пероральное назначение лекарственных препаратов осуществляют курсом в течение 3–4 дней.

**Заявитель:** Я. А. Накатис

**Авторы:**

Н. Н. Плужников

Я. А. Накатис

О. Г. Хурцилава

С. В. Чепур

Л. С. Бакулина

Д. В. Разумова

А. И. Ярцев

## Литература

1. Ляшенко Ю. И. Ангина. Руководство по инфекционным болезням / Под ред. Ю. В. Лобзина. — 3-е изд. — М., 2003. — С. 148–155.

2. Крюков А. И., Изотова Г. Н., Захарова А. Ф. и др. Актуальность проблемы хронического тонзиллита // Вестн. оторинолар. — 2009. — № 5. — С. 4–6.

3. Нагоев Б. С., Нагоева М. Н. Состояние показателей свободнорадикального окисления липидов у больных бактериальной ангиной // Вестн. оторинолар. — 2008. — № 5. — С. 36–40.

4. Брико Н. И. Клинико-эпидемиологические проявления и перспективы контроля стрептококковой (группы А) инфекции // Мед. каф. — 2006. — № 2. — С. 4–13.

5. Преображенский Н. А., Кодолова И. М. Ангина горловая // БМЭ. — М.: Советская энциклопедия, 1974. — Т. 1. — С. 456–462.

6. Белов Б. С., Насонова В. А., Гришаева Т. П., Сидоренко С. В. Острая ревматическая лихорадка и А-стрептококковый тонзиллит: современное состояние проблемы, вопросы антибиотикотерапии // Антибиот. химиотер. — 2000. — № 45 (4). — С. 22–27.

7. Лучшева Ю. В. Хронический тонзиллит как фактор, вызывающий ревматические заболевания. Современный взгляд на проблему // Справ. поликл. врача. — 2007. — № 5 (3). — С. 10–14.

8. Славинский А. Н. Роль хронического тонзиллита в формировании патологии репродуктивной системы у женщин детородного возраста // Вестн. оторинолар. — 2009. — № 4. — С. 40–44.

9. Guilherme L., Kalil J. Rheumatic fever and rheumatic heart disease: cellular mechanisms leading autoimmune reactivity and disease // J. Clin. Immunol. — 2010. — Vol. 30 (1). — P. 17–23.

10. Huang H., Peng Y., Liu H. et al. Decreased CD4+CD25+ cells and increased dimeric IgA-producing cells in tonsils in IgA nephropathy // J. Nephrol. — 2010. — Vol. 23 (2). — P. 202–209.

11. Пальчун В. Т. Развитие проблемы хронического тонзиллита // Вестн. ото-ринолар. — 2006. — Vol. 6. — P. 7-8.
12. Солдатова И. Б. Тонзиллит. БМЭ. — М.: Советская энциклопедия, 1985. — Т. 25. — С. 148-152.
13. Патент РФ 2031655.
14. Патент РФ 2049467.
15. Патент РФ 2287797.
16. Patent US 20100158819.
17. Chole R. A., Faddis B. T. Anatomical evidence of microbial biofilms in tonsillar tissue: a possible mechanism to explain chronicity // Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg. — 2003. — Vol. 129 (6). — P. 634-636.
18. Brook I. Overcoming penicillin failures in the treatment of group A streptococcal pharyngo-tonsillitis // Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol. — 2007. — Vol. 71 (10). — P. 1501-1508.
19. Zautner A. E., Krause M., Stropahl G. et al. Intracellular persisting *Staphylococcus aureus* is the major pathogen in recurrent tonsillitis // PLoS One. — 2010. — Vol. 5 (1). — P. e9452.
20. Mora R., Dellepiane M., Crippa B., Salami A. Ribosomal therapy in the prophylaxis of recurrent pharyngo-tonsillitis in children // Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol. — 2007. — Vol. 71 (2). — P. 257-261.
21. Gaffney R. J., Cafferkey M. T. Bacteriology of normal and diseased tonsils assessed by fine-needle aspiration: *Haemophilus influenzae* and the pathogenesis of recurrent acute tonsillitis // Clin. Otolaryngol. — 1998. — Vol. 23 (2). — P. 181-185.
22. Lindroos R. Bacteriology of the tonsil core in recurrent tonsillitis and tonsillar hyperplasia — a short review // Acta Otolaryngol. — 2000. — Vol. 120 (543). — P. 206-208.
23. Lilja M., Raisanen S., Stenfors L. E. Initial events in the pathogenesis of acute tonsillitis caused by *Streptococcus pyogenes* // Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol. — 1998. — Vol. 45 (1). — P. 15-20.
24. Wright A. J. Tonsillar function — review of the evidence // J. Laryngol. Otol. — 1950. — Vol. 64 (1). — P. 1-11.
25. Mal R. K., Oluwasanmi A. F., Mitchard J. R. Tonsillar crypts and bacterial invasion of tonsils, a pilot study // Int. J. Otorhinolaryngol. — 2009. — Vol. 9 (2).
26. Ball S. L., Siou G. P., Wilson J. A. et al. Expression and immunolocalisation of antimicrobial peptides within human palatine tonsils // J. Laryngol. Otol. — 2007. — Vol. 121 (10). — P. 973-978.
27. Полякова Т. С., Полякова Е. П. Хронический тонзиллит: диагностика, лечение, профилактика РМЖ. — 2004. — Vol. 12 (2). [http://www/rmj.ru/articles\\_464.htm](http://www/rmj.ru/articles_464.htm)
28. Poyton R. O., McEwen J. E. Crosstalk between nuclear and mitochondrial genomes Ann. Rev. // Biochem. — 1996. — Vol. 65. — P. 563-607.
29. Dobson G. P., Himmelreich U. Heart design: free ADP scales with absolute mitochondrial and myofibrillar volumes from mouse to human // Biochim. Biophys. Acta. — 2002. — Vol. 1553 (3). — P. 261-267.
30. Маргелис Л. Роль симбиогенеза в эволюции клетки. — М.: Мир, 1983. — 352 с.
31. Zhang Q., Raoof M., Chen Y. Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury // Nature. — 2010. — Vol. 464 (7285). — P. 104-107.
32. Jabbari K., Bernardi G. Cytosine methylation and CpG, TpG (CpA) and TpA frequencies // Gene. — 2004. — Vol. 333. — P. 143-149.



33. Chockaligam A., Lopez J. L., Brooks J. C., Leifer C. A. Toll-like receptor 9 constitutively traffics from the ER to the lysosome prior to stimulation with CpG DNA // *FASEB J.* — 2008. — Vol. 22. — P. 672-678.
34. Chockaligam A., Brooks J. C., Cameron J. L. et al. TLR9 traffics through the Golgi complex to localize to endolysosomes and respond to CpG DNA // *Immunol Cell Biol.* 2009. — Vol. 87 (3). — P. 209-217.
35. Mansson A., Adner M., O Cardell L. Toll-like receptors in cellular subset of human tonsil T cells: altered expression during recurrent tonsillitis // *Resp. Res.* — 2006. — Vol. 7. — P. 36.
36. Jendholm J., Morgelin M., Perez Vidakovics M. L. A. et al. Superantigen- and TLR-dependent activation of tonsillar B cells after receptor mediated endocytosis // *J. Immunol.* — 2009. — Vol. 182 (8). — P. 4713-4720.
37. Lange M. J., Lasiter J. C., Misfeldt M. L. Toll-like receptors in tonsillar epithelial cells // *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* — 2009. — Vol. 73 (4). — P. 613-621.
38. Claeys S., De Belder T., Holtappels G. et al. Human  $\beta$ -defensins and toll-like receptors in the upper airway // *Allergy.* — 2003. — Vol. 58 (8). — P. 748-753.
39. Xu W., He B., Chin A. et al. Epithelial cells trigger frontline immunoglobulin class switching through a pathway regulated by the inhibitor SLPI // *Nat. Immunol.* — 2007. — Vol. 8. — P. 294-303.
40. Akira S., Takeda K. Toll-like receptor signaling // *Nat. Rev. Immunol.* — 2004. — Vol. 4 (7). — P. 499-511.
41. Knuefman P., Baumgarten G., Koch A. et al. CpG oligonucleotide activates Toll-like receptor 9 and causes lung inflammation *in vivo* // *Respir. Res.* — 2007. — Vol. 8 (1). — P. 72.
42. Plitas G., Burt B. M., Nguyen H. M. et al. Toll-like receptor 9 inhibition reduces mortality in polymicrobial sepsis // *J. Exp. Med.* — 2008. — Vol. 205 (6). — P. 1277-1283.
43. Le Y., Murphy P. M., Wang J. M. Formyl-peptide receptor revisited // *Trends Immunol.* — 2002. — Vol. 23 (11). — P. 541-548.
44. Le Y., Wang J. M., Lin X. et al. Biologically active peptides interacting with G protein-coupled formylpeptide receptor // *Protein Pept. Lett.* — 2007. — Vol. 14 (9). — P. 846-853.
45. Wentworth C. C., Jones R. M., Kwon Y. M. et al. Commensal-epithelial signaling mediated via formyl peptide receptors // *Am. J. Pathol.* — 2010. — Vol. 177 (6). — P. 2782-2790.
46. Shao G., Julian M. W., Bao S. et al. Formyl peptide receptor ligands promote wound closure in lung epithelial cells // *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 2010. — Vol. 44 (3). — P. 264-269.
47. Partida-Sanchez S., Cockayne D. A., Monard S. et al. Cyclic ADP-ribose production by CD38 regulates intracellular calcium release, extracellular calcium influx and chemotaxis in neutrophils and is regulated for bacterial clearance *in vivo* // *Nat. Med.* — 2001. — Vol. 7. — P. 1209-1216.
48. Panaro M. A., Acquafredda A., Sisto M. et al. Biological role of N-formyl peptide receptors // *Immunopharm. Immunotoxicol.* — 2006. — Vol. 28 (1). — P. 103-127.
49. Zhu P., Liu X., Trempl L. S. et al. Mechanism and regulatory function of CpG signaling via scavenger receptor-B1 in primary B cells // *J. Biol. Chem.* — 2009. — Vol. 284 (34). — P. 22878-22887.
50. Crabtree G. R. Generic signals and specific outcomes: signaling through  $\text{Ca}^{2+}$ , calcineurin, and NF-AT // *Cell.* — 1999. — Vol. 96 (5). — P. 611-614.

51. Messutat S., Heine M., Wicker D. Calcium-induced calcium release in neurosecretory insect neurons: fast and slow responses // *Cell Calcium*. – 2001. – Vol. 30 (3). – P. 199–211.
52. Roderick H. L., Berridge M. J., Bootman M. D. Calcium-induced calcium release // *Curr. Biol*. – 2003. – Vol. 13 (11). – P. R425.
53. Aramburu J., Rao A., Klee C. Calcineurin: from structure to function // *Curr. Top. Cell. Regul.* 2000. – Vol. 36. – P. 273–295.
54. Rusnak F., Martz P. Calcineurin: form and function // *Physiol. Rev.* – 2000. – Vol. 80. – P. 1483–1521.
55. Kissinger C. R., Parge H. E., Knighton D. R. et al. Crystal structures of human calcineurin and the human FKBP12–FK506-calcineurin complex // *Nature*. – 1995. – Vol. 378 (6557). – P. 641–644.
56. Karin M., Liu Z., Zandi E. AP-1 function and regulation // *Curr. Opin. Cell. Biol.* – 1997. – Vol. 9 (2). – P. 240–246.
57. Macian F., Lopez-Rodriguez C., Rao A. Partners in transcription: NF-AT and AP-1 // *Oncogene*. – 2002. – Vol. 20 (19). – P. 2476–2489.
58. Yoneyama M., Suhara W., Fujita T. Control of IRF-3 activation by phosphorylation // *J. Interferon Cytokine Res.* – 2002. – Vol. 22 (1). – P. 73–76.
59. Somerville R. P. T., Oblander S. A., Apte S. S. Matrix metalloproteinases: old dog with new tricks // *Genome Biol.* – 2003. – Vol. 4 (6). – P. 216.
60. Vanlaere I., Libert C. Matrix metalloproteinases as drug targets in infections caused by gram-negative bacteria and in septic shock // *Clin. Microbiol. Rev.* – 2009. – Vol. 22 (2). – P. 224–239.
61. Chuai S., Hu T., Liu J., Shen X. Regulation of the arachidonic acid-stimulated respiratory burst in neutrophils by intracellular and extracellular calcium // *Chin. Sci. Bull.* – 2001. – Vol. 46 (4). – P. 314–317.
62. Walker G., Kunz D., Pignat W. et al. Suppression by cyclosporine A of interleukin 1 beta-induced expression of group II phospholipase A2 in rat mesangial cells // *Br. J. Pharmacol.* – 1997. – Vol. 121 (4). – P. 787–793.
63. Huang Z.-F., Massey J. B., Via D. P. Differential regulation of cyclooxygenase-2 (COX-2) mRNA stability by interleukin-1 B (IL-1B) and tumor necrosis factor-A (TNF-A) in human *In vivo* differentiated macrophages – an essential regulator of NO-mediated apoptosis // *Biochem. Pharmacol.* – 2000. – Vol. 59 (2). – P. 187–194.
64. Schievella A. R., Regier M. K., Smith W. L., Lin L. L. Calcium-mediated translocation of cytosolic phospholipase A2 to the nuclear envelope and endoplasmic reticulum // *J. Biol. Chem.* – 1995. – Vol. 270 (51). – P. 30749–30754.
65. Cummings B. S., McHowat J., Schnellman R. G. Phospholipase A (2) in cell injury and death // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2000. – Vol. 294 (3). – P. 793–799.
66. Pompeia C., Freitas J. J. S., Kim J. S. et al. Arachidonic acid cytotoxicity in leukocytes. – P. implications of oxidative stress and eicosanoid synthesis // *Biol. Cell.* – 2002. – Vol. 94 (45). – P. 251–256.
67. Lee S. M., Cheung C. Y., Nicholls J. M. et al. Hyperinduction of cyclooxygenase-2-mediated proinflammatory cascade: a mechanism for the pathogenesis of avian influenza // *J. Infect. Dis.* – 2008. – Vol. 198 (4). – P. 525–535.
68. Gabryel B., Chalimoniuk M., Stolecka A. et al. Inhibition of arachidonic acid release by cytosolic phospholipase A2 is involved in the antiapoptotic effect of FK506 and cyclosporine A on astrocytes exposed to simulated ischemia *in vitro* // *J. Pharmacol. Sci.* – 2006. – Vol. 102 (1). – P. 77–87.

69. Scorrano L., Penzo D., Petronilli V. et al. Arachidonic acid causes cell death through the mitochondrial permeability transition. Implication for tumor necrosis factor- $\alpha$  apoptotic signaling // *J. Biol. Chem.* – 2001. – Vol. 276 (15). – P. 12035–12040.

70. Bustin M. Regulation of DNA-dependent activities by the functional motifs of the high-mobility-group chromosomal proteins // *Mol. Cell. Biol.* – 1999. – Vol. 19 (8). – P. 5237–5246.

71. Sunden-Cullberg J., Soop A., Tokics L., Treutiger C.-J. HMGB-1 is an early mediator of inflammation and may be negative regulated by soluble receptor for advanced glycation end products in experimental endotoxemia and in sepsis // *Crit. Care.* – 2008. – Vol. 12 (5). – P. p44.

72. Sims G. P., Rowe D. C., Reithdijk S. T. et al. HMGB1 and RAGE in inflammation and cancer // *Ann. Rev. Immunol.* – 2010. – Vol. 28. – P. 367–388.

73. Cardella S., Andrei C., Ferrera D. et al. The nuclear protein HMGB-1 is secreted by monocytes via non-classical, vesicle-mediated secretory pathway // *EMBO Rep.* – 2002. – Vol. 3 (10). – P. 995–1001.

74. Ulloa L., Batliwalla F. M., Andersson U. et al. High mobility group box chromosomal protein 1 as a nuclear protein, cytokine, and potential therapeutic target in arthritis // *Arthritis Rheum.* – 2003. – Vol. 48 (4). – P. 876–881.

75. Peltz E. D., Moore E. E., Eckels P. C. et al. HMGB1 is markedly elevated within 6 hours of mechanical trauma in humans // *Shock.* – 2009. – Vol. 32 (1). – P. 17–22.

76. Cohen M. J., Brohi K., Calfee C. S. et al. Early release of high mobility group box nuclear protein 1 after severe trauma in humans: role of injury severity and tissue hypoperfusion // *Crit. Care.* – 2009. – Vol. 13 (6). – P. R174.

77. Jiang W., Li J., Gallowitsch-Puerta M. et al. The effect of CpG DNA on HMGB1 release by murine macrophage cell lines // *J. Leukoc. Biol.* – 2005. – Vol. 78 (4). – P. 930–936.

78. Crouser E. D., Shao G., Julian M. W. et al. Monocyte activation by necrotic cells is promoted by mitochondrial proteins and formyl peptide receptors // *Crit. Care Med.* – 2009. – Vol. 37 (6). – P. 2000–2009.

79. Tsung A., Klune J. R., Zhang X. et al. HMGB1 release induced by liver ischemia involves Toll-like receptor 4 dependent reactive oxygen species production and calcium-mediated signaling // *J. Exp. Med.* – 2007. – Vol. 204 (12). – P. 2913–2923.

80. Tang D., Kang R., Zeh H. J. et al. High-mobility group box 1, oxidative stress, and disease // *Antioxidants Redox Signaling.* – 2011. – Vol. 14 (7). – P. 1315–1335.

81. Fink M. P. Bench-to bedside review: high-mobility group box 1 and critical illness // *Crit. Care.* – 2007. – Vol. 11. – P. 229. – Doi: 10.1186/cc6088.

82. Mullins G., Sunden-Cullberg J., Johansson A. S. et al. Activation of human umbilical vein endothelial cells to relocation and release of high-mobility group box chromosomal protein 1 // *Scand. J. Immunol.* – 2004. – Vol. 60 (6). – P. 566–573.

83. Porto A., Palumbo R., Pieroni M. et al. Smooth muscle cells in human atherosclerotic plaques secrete and proliferate in response to high mobility group box 1 protein // *FASEB J.* – 2006. – Vol. 20 (14). – P. 2556–2566.

84. Harris H. E., Andersson U. The nuclear protein HMGB1 as a proinflammatory mediator // *Eur. J. Immunol.* – 2004. – Vol. 34 (6). – P. 1503–1512.

85. Calandra T., Spiegel L. A., Metz C. N., Bacula R. Macrophage migration inhibitory factor is critical mediator of the activation of immune cells by exotoxin of gram-positive bacteria // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1998. – Vol. 95 (19). – P. 11383–11388.

86. Calandra T., Echtenacher B., Roy D. L. et al. Protection from septic shock by neutralization of macrophage migration inhibitory factor // *Nat. Med.* — 2000. — Vol. 6 (2). — P. 164–170.

87. Calandra T., Roger T. Macrophage migration inhibitory factor: a regulator of innate immunity // *Nat. Rev. Immunol.* — 2003. — Vol. 3 (10). — P. 791–800.

88. Shimizu T., Niizeki H., Takeuchi O. et al. Induction of macrophage migration inhibitory factor precedes the onset of acute tonsillitis // *Mediat. Inflamm.* — 2004. — Vol. 13 (4). — P. 293–295.

89. Brenner T., Rosenhagen C., Steppan J. et al. Redox responses in patients with sepsis: high correlation of thioredoxin-1 and macrophage migration inhibitory factor plasma levels // *Mediat. Inflamm.* — 2010. — ID 985614.

90. Lee H. J., Ruskin G., Hussain E. et al. Lung as source of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in septic shock // *Chest.* — 2007. — Vol. 132 (4). — P. 553S.

91. Mitchell R. A., Liao H., Chesney J. et al. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) sustains macrophage proinflammatory function by inhibiting p53: regulatory role in the innate immune response // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2002. — Vol. 99 (1). — P. 345–350.

92. Xie B., Wang F., Shen X. et al. Does macrophage migration inhibitory factor function as a switch in sepsis circulation? // *Internet J. Med. Update.* — 2008. — Vol. 3 (2). — P. 40–45.

93. Snter P. D., Al-Abed Y., Metz C. N. et al. Inhibition of macrophage migration inhibitory factor (MIF) tautomerase and biological activities by acetaminophen metabolites // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2002. — Vol. 99 (1). — P. 144–149.

94. Al-Abed Y., Dabidden D., Aljabari B. et al. ISO-1 binding to the tautomerase active site of MIF inhibits its pro-inflammatory activity and increases survival in severe sepsis // *J. Biol. Chem.* — 2005. — Vol. 280 (44). — P. 36541–36544.

95. Нагоева М. Х. Патогенетические аспекты состояния свободнорадикального статуса, иммунитета, цитокинового профиля и среднемолекулярных пептидов у больных ангиной: автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. — М., 2010. — 28 с.

96. Bullen J. J., Rogers H. J., Spading P. B., Ward C. G. Iron and infection: the heart of the matter // *FEMS Immunol. Microbiol.* — 2005. — Vol. 43 (3). — P. 325–330.

97. Litwin C. M., Calderwood S. B. Role of iron in regulation of virulence genes // *Clin. Microbiol. Rev.* — 1993. — Vol. 6 (2). — P. 137–149.

98. Kaneko Y., Thoendal M., Olakanmi O. et al. The transition metal gallium disrupts *Pseudomonas aeruginosa* iron metabolism and has antimicrobial and antibiofilm activity // *J. Clin. Invest.* — 2007. — Vol. 117 (4). — P. 877–888.

99. Griffiths E. Iron in biological systems Iron and infection. Molecular, physiological and clinical aspects eds.: J. J. Bullen, E. Griffiths. — Chichester: J. Wiley, 1999. — P. 1–26.

100. Sawyer D. T. Oxygen complexes and oxygen activation by transition metals eds.: A. E. Martell, D. T. Sawyer. — N.-Y.; London: Plenum Press, 1988. — P. 131–147.

101. Владимиров Ю. А., Азизова О. А., Деев А. И. и др. Свободные радикалы в живых системах // *Биофизика. (Итоги науки и техники ВИНТИ АН СССР).* — М.: ВИНТИ, 1991. — № 29. — 252 с.

102. Янковский О. Ю. Токсичность кислорода и биологические системы (эволюционные, экологические и медико-биологические аспекты). — СПб.: Игра, 2000. — 294 с.

103. Lagan A. L., Melley D. D., Evans T. W., Quinland G. J. Pathogenesis of the systemic inflammatory syndrome and acute lung injury: role of iron mobilization and

decompartmentalization // *Am. J. Lung Cell. Mol. Physiol.* – 2008. – Vol. 294. – P. L161–L174.

104. *Flierl M. A., Rittirsch D., Nadeau B. A.* et al. Phagocyte-derived catecholamines enhance acute inflammatory injury // *Nature.* – 2007. – Vol. 449 (7163). – P. 721–725.

105. *Flierl M. A., Rittirsch D., Huber-Lang M.* et al. Catecholamines – crafty weapons in the inflammatory arsenal of immune/inflammatory cells or opening Pandora's box? // *Mol. Med.* – 2008. – Vol. 14 (3–4). – P. 195–204.

106. *Sandrini S. M., Shergill R., Woodward J.* et al. Elucidation of the mechanism by which catecholamine stress hormones liberate iron from innate immune defense proteins transferrin and lactoferrin // *J. Bacteriol.* – 2010. – Vol. 192 (2). – P. 587–594.

107. *Freestone P., Sandrini S., Haigh R., Lyte M.* Microbial endocrinology: how stress influences susceptibility to infection // *Trends Microbiol.* – 2008. – Vol. 16 (2). – P. 55–64.

108. *Neale C. P., Freestone P. P., Maggs A. F.* et al. Catecholamine inotropes as growth for *Staphylococcus epidermidis* and other coagulase-negative staphylococci // *FEMS Microbiol. Lett.* – 2001. – Vol. 194 (2). – P. 163–169.

109. *Forsbery C. M., Bullen J. J.* The effect of passage and iron on the virulence of *Pseudomonas aeruginosa* // *J. Clin. Pathol.* – 1972. – Vol. 25. – P. 65–68.

110. *Paradkar P. N., De Domenico I., Durchfort N.* et al. Iron depletion limits intracellular bacterial growth in macrophages // *Blood.* – 2008. – Vol. 112 (3). – P. 866–874.

111. *Van Eijk L. T., Kroot J. J. C., Tromp M.* et al. Inflammation-induced hepcidin-25 is associated with the development of anemia in septic patients: an observational study // *Crit. Care.* – 2011. – Vol. 15 (1). – P. R9.

112. *Arnold J., Sangwaiya A., Manglam V.* et al. Presence of hepcidin-25 in biological fluids: bile, ascetic and pleura fluids // *World J. Gastroenterol.* – 2010. – Vol. 16 (17). – P. 2129–2133.

113. *Munoz M., Villar I., Garcia-Erce J. A.* et al. An update on iron physiology // *World J. Gastroenterol.* – 2009. – Vol. 15 (37). – P. 4617–4626.

114. *Gnana-Prakasam J. P., Martin P. M., Mysona B. A.* et al. Heparin expression in mouse retina and its regulation via lipopolysaccharide/Toll-like receptor-4 pathway independent of Hfe // *Biochem. J.* – 2008. – Vol. 411 (1). – P. 79–88.

115. *Krause A., Neitz S., Magert H. J.* et al. LEAP-1, a novel highly disulfide-bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity // *FEBS Lett.* – 2000. – Vol. 480 (2–3). – P. 147–150.

116. *Podbielski A., Beckert S., Schattke R.* et al. Epidemiology and virulence gene expression of intracellular group A streptococci in tonsils of recurrently infected adults // *Int. J. Med. Microbiol.* – 2003. – Vol. 293 (2–3). – P. 179–190.

117. *Zautner A. E., Krause M., Stropahl G.* et al. Intracellular persisting *Staphylococcus aureus* is the major pathogen in recurrent tonsillitis // *PLoS One.* – 2010. – Vol. 5 (1). – P. e9452.

118. *Chole R. A., Faddis B. T.* Anatomical evidence of microbial biofilms in tonsillar tissues: a possible mechanism to explain chronicity // *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.* – 2003. – Vol. 129 (6). – P. 634–636.

119. *Galli J., Calo L., Ardito F.* et al. Biofilm formation by *Haemophilus influenzae* isolated from adeno-tonsil tissue samples, and its role in recurrent adenotonsillitis // *Acta Otorhinolaryngol. Ital.* – 2007. – Vol. 27 (3). – P. 134–138.

120. *Post J. C., Hiller N. L., Nistico L.* et al. The role of biofilms in otolaryngologic infections: update 2007 // *Curr. Opin. Otolaryngol. Head Neck Surg.* – 2007. – Vol. 15 (5). – P. 347–351.

121. *Swidsinski A., Goktas O., Bessler C. et al.* Spatial organization of microbiota in quiescent adenoiditis and tonsillitis // *J. Clin. Pathol.* — 2007. — Vol. 60 (3). — P. 253–260.
122. *Pichichero M. E., Casey J. R.* Systemic review of factors contributing to penicillin treatment failure in *Streptococcus pyogenes* pharyngitis // *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.* — 2007. — Vol. 137 (6). — P. 851–857.
123. *Canchaya C., Fournous G., Brussow H.* The impact of prophages on bacterial chromosomes // *Mol. Microbiol.* — 2004. — Vol. 53 (1). — P. 8–9.
124. *Zueva V. S., Nesterenko L. N., Dmitrienko O. A., Akatov A. K.* Lysogeny of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and the role of prophages in transfer of conjugative and nonconjugative plasmids // *J. Chemother.* — 1991. — Vol. 3 (5). — P. 279–282.
125. *Fischetti V. A.* *In vivo* acquisition of prophage in *Streptococcus pyogenes* // *Trends Microbiol.* — 2007. — Vol. 15 (7). — P. 297–300.
126. *Kuroda M., Ohta T., Uchiyama I. et al.* Whole genome sequence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* // *Lancet.* — 2001. — Vol. 357 (9264). — P. 1225–1240.
127. *Beres S. B., Sylva G. L., Barbian K. D. et al.* Genome sequence of a serotype M3 strain of group A *Streptococcus*: phage-encoded toxins, the high-virulence phenotype, and clone emergence // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2002. — Vol. 99 (15). — P. 10078–10083.
128. *Carrolo M., Frias M. J., Pinto F. R. et al.* Prophage spontaneous activation promotes DNA release enhancing biofilm formation in *Streptococcus pneumoniae* // *PLoS One.* 2010. — Vol. 5 (12). — P. e15678.
129. *Szeto H. H.* Mitochondria-targeted peptide antioxidants: novel neuroprotective agents // *AAPS J.* — 2006. — Vol. 8 (3). — P. E521–E531.
130. *Янковский О. Ю.* Токсичность кислорода и биологические системы (эволюционные, экологические и медико-биологические аспекты). — СПб.: Игра, 2000. — 294 с.
131. *Cochran W. L., McFetes G. A., Stewart P. S.* Reduced susceptibility of thin *Pseudomonas aeruginosa* biofilms to hydrogen peroxide and monochloramine // *J. Appl. Microbiol.* — 2000. — Vol. 88 (1). — P. 22–30.
132. *Thomas E. L., Milligan T. W., Joyner R. E., Jefferson M. M.* Antibacterial activity of hydrogen peroxide and the lactoperoxidase-hydrogen peroxide-thiocyanate system against oral streptococci // *Infect. Immunol.* — 1994. — Vol. 62 (2). — P. 529–535.
133. *Konola J. T., Sargent K. E., Gow J. B.* Efficient repair of hydrogen peroxide-induced DNA damage by *Escherichia coli* requires SOS induction of RecA and RuvA proteins // *Mutat. Res.* — 2000. — Vol. 459 (3). — P. 187–194.
134. *Selva L., Viana D., Regev-Yochay G. et al.* Killing niche competitors by remote-control bacteriophage induction // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2009. — Vol. 106 (4). — P. 1234–1238.
135. *Плужников Н. Н., Гайдар Б. В., Ченур С. В. и др.* Редокс регуляция: фундаментальные и прикладные проблемы // *Актуальные проблемы и перспективы развития военной медицины.* — СПб.: НИИЦ МБЗ ГНИИИ ВМ МО РФ, 2003. — Т. 4. — С. 139–175.
136. *Muller J. M., Rupec R. A., Baeuerle P. A.* Study of gene regulation by NF-kappa B and AP-1 in response to reactive oxygen intermediates // *Methods.* — 1997. — Vol. 11 (3). — P. 301–312.

137. Goerlich O., Quillardet P., Hofnung M. Induction of the SOS response by hydrogen peroxide in various *Escherichia coli* mutants with altered protection against oxidative DNA damage // *J. Bacteriol.* – 1989. – Vol. 171 (11). – P. 6141–6147.
138. Pericone C. D., Overweg K., Hermans P. W. M., Weiser J. N. Inhibitory and bactericidal effects of hydrogen peroxide production by *Streptococcus pneumoniae* on other inhabitants of the upper respiratory tract // *Infect. Immunol.* – 2000. – Vol. 68 (7). – P. 3990–3997.
139. Park B., Nizet V., Liu G. Y. Role of *Staphylococcus aureus* catalase in niche competition against *Streptococcus pneumoniae* // *J. Bacteriol.* – 2008. – Vol. 190 (7). – P. 2275–2278.
140. Regev-Yochay G., Trzcinski K., Thompson C. M. et al. Interference between *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus*: *in vitro* hydrogen peroxide-mediated killing by *Streptococcus pneumoniae* // *J. Bacteriol.* – 2006. – Vol. 188 (13). – P. 4996–5001.
141. Daeschel M. A. Antimicrobial substances from lactic acid bacteria for use as food preservatives // *Food Technol.* – 1989. – Vol. 43 (1). – P. 164–167.
142. Anders R. F., Hogg D. M., Jago G. R. Formation of hydrogen peroxide by group N streptococci and its effect on their growth and metabolism // *Appl. Microbiol.* – 1970. – Vol. 19 (4). – P. 602–612.
143. Condon S. Responses of lactic acid bacteria to oxygen // *FEMS Microbiol. Rev.* – 1987. – Vol. 46 (3). – P. 269–280.
144. Martin R., Soberon N., Escobedo S., Suarez J. E. Bacteriophage induction versus vaginal homeostasis: role of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in the selection of *Lactobacillus* defective prophages // *Int. Microbiol.* – 2009. – Vol. 12 (2). – P. 131–136.
145. Martin R., Soberon N., Vaneechoutte M. et al. Characterization of indigenous vaginal lactobacilli from healthy women as probiotic candidates // *Int. Microbiol.* – 2008. – Vol. 11 (4). – P. 261–266.
146. Martin R., Suarez J. E. Biosynthesis and degradation of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> by vaginal lactobacilli // *Appl. Environ Microbiol.* – 2010. – Vol. 76 (2). – P. 400–405.
147. Yoshida Y., Maruyama M., Fujita T. et al. Reactive oxygen intermediates stimulate interleukin-6 production in human bronchial epithelial cells // *Am. J. Physiol.* – 1999. – Vol. 276 (6). – P. L900–L908.
148. Feng Y., Santoriello C., Mione M. et al. Live imaging of innate immune cell sensing of transformed cells in Zebrafish larvae: parallels between tumor initiation and wound inflammation // *PLoS Biol.* – 2010. – Vol. 8 (12). – P. e1000562.
149. Машковский М. Д. Лекарственные средства. – М.: Новая Волна, 2005. – 1200 с.
150. Ефремов В. В., Спиричев В. Б., Симакова Р. А. Витамины: Большая медицинская энциклопедия. – М.: Советская Энциклопедия, 1976. – Т. 4. – С. 270–275.
151. Патент РФ 2339389.
152. Патент РФ 2132681.
153. Патент РФ 2116788.
154. Плужников Н. Н., Бакулина Л. С., Легеза В. И. и др. Некоторые аспекты антирадикальной защиты биомембран // *Актуальные проблемы и перспективы развития военной медицины.* – СПб.: НИИЦ МБЗ ГНИИИ ВМ МО РФ. – Т. 4. – С. 123–139.
155. Садчиков Д. В., Куликова Т. Н., Лопатин И. В. Мексидол в терапии критических состояний. – Саратов, 2004. – 14 с.

156. Лукьянова Л. Д. Биоэнергетическая гипоксия: понятие, механизмы и способы коррекции // Бюлл. экспер. биол. мед. — 1997. — № 124 (9). — С. 245–254.
157. Золотов Н. Н., Смирнов Л. Д., Кузьмина В. И. и др. Производные 3-оксипиридина как ингибиторы протеолитических ферментов // Хим.-фарм. журн. — 1989. — № 23 (2). — С. 133–135.
158. Клебанов Г. И., Любицкий О. Б., Ильина С. У. и др. Антиоксидантная активность ингибиторов свободнорадикальных реакций, используемых в перевязочном материале для лечения ран // Биол. мед. фармац. химия. — 2006. — Vol. 52 (1). — P. 69–82.
159. Kido H., Okumura Y., Yamada H. et al. Secretory leukoprotease inhibitor and pulmonary surfactant serve as principal defenses against influenza A virus infection in the airway and chemical agents up-regulating their levels may have therapeutic potential // Biol. Chem. — 2004. — Vol. 385 (11). — P. 1029–1034.
160. Lagan A. L., Melley D. D., Evans T. W., Quilan G. J. Pathogenesis of the systemic inflammatory syndrome and acute lung injury: role of iron mobilization and decompartmentalization // Am. J. Lung Cell Mol. Physiol. — 2008. — Vol. 294 (2). — P. L161–L174.
161. Патент РФ 2281760.
162. Патент РФ 2205641.
163. Hooper L. V., Gordon J. I. Glycans as legislator of host-microbial interactions: spanning the spectrum from symbiosis to pathogenicity // Glycobiology. — 2001. — Vol. 11 (2). — P. 1R-10R.
164. Imberty A., Wimmerova M., Mitchell E. P., Gilboa-Garber N. Structures of the lectins from *Pseudomonas aeruginosa*: insights into the molecular basis for host glycan recognition // Microb. Infect. — 2004. — Vol. 6 (2). — P. 221–228.
165. Bucior I., Mostov K., Engel J. N. *Pseudomonas aeruginosa*-mediated damage requires distinct receptors at the apical and basolateral surfaces of the polarized epithelium // Infect. Immun. — 2010. — Vol. 78 (3). — P. 939–953.
166. Cash H. L., Whitham C. V., Behrendt C. L., Hooper L. V. Symbiotic bacteria direct expression of an intestinal lectin // Science. — 2006. — Vol. 313 (5790). — P. 1126–1130.
167. Jablonka E., Lamb M. E. Evolution in four dimensions: genetic, epigenetic, behavioral, and symbolic variation in the history of life. — MIT Press, 2005. — P. 113–154.
168. Lan J., Hua S., He X., Zhang Y. DNA methyltransferases and methylbinding proteins of mammals // Acta Biochim. Biophys. Sin. — 2010. — Vol. 42 (4). — P. 243–252.
169. Lim D. H. K., Maher E. R. DNA methylation: a form of epigenetic control of gene expression // Obstetrician Gynaecologist. — 2010. — Vol. 12 (1). — P. 37–42.
170. Van Vliet J., Oates N. A., Whitelaw E. Epigenetic mechanisms in the context of complex disease // Cell. Moll. Life Sci. — 2007. — Vol. 64 (12). — P. 1531–1538.
171. Gluckman P. D., Hanson M. A., Buklijas T. et al. Epigenetic mechanisms that underpin metabolic and cardiovascular diseases // Nat. Rev. Endocrinol. — 2009. — Vol. 5 (7). — P. 401–408.
172. Mattick J. S. The functional genomics of noncoding RNA // Science. — 2005. — Vol. 309 (5740). — P. 1527–1528.
173. Chang S., Wen S., Chen D., Jin P. Small regulatory RNAs in neurodevelopmental disorders // Human Mol. Genetics. — 2009. — Vol. 18 (1). — P. R18–R26.



174. *Bombail V., Moggs J. G., Orphanides G.* Perturbation of epigenetic status by toxicant // *Toxicol. Lett.* – 2004. – Vol. 149 (1-3). – P. 51-58.
175. *Bronner C., Chataigneau T., Schini-Kerth V. B., Landry Y.* The «Epigenetic code replication machinery», ECREM: a promising target of the epigenetic cell memory // *Curr. Med. Chem.* – 2007. – Vol. 14 (25). – P. 2629-2641.
176. *Coward W. R., Watts K., Feghali-Bostwick C. A.* et al. Repression of IP-10 by interactions between histone deacetylation and hypermethylation in idiopathic pulmonary fibrosis // *Mol. Cell. Biol.* 2010. – Vol. 30 (12). – P. 2874-2886.
177. *Bannerjee R., Ragsdale S. W.* The many faces of vitamin B12: catalysis by cobalamin-dependent enzymes // *Ann. Rev. Biochem.* – 2003. – Vol. 72. – P. 209-247.
178. *Lechner K., Fodinger M., Grisold W.* et al. Vitamin B12 deficiency. New data on an old theme // *Wien Klin. Wochenschr.* – 2005. – Vol. 117 (17). – P. 579-591.
179. *Schneider E., Pliushch G., Hajj N. B.* et al. Spatial, temporal and interindividual epigenetic variation of functionally important DNA methylation patterns // *Oxford J. Life Sci.* – 2010. – Vol. 38 (12). – P. 3380-3390.
180. *Rufenacht P., Mach-Pascual S., Iten A.* Vitamin B12 deficiency: a challenging diagnosis and treatment // *Rev. Med. Suisse.* – 2008. – Vol. 4 (175). – P. 2212-2214; 2216-2217.
181. *Allen L. H.* How common is vitamin B-12 deficiency? // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2009. – Vol. 89 (2). – P. 693S-696S.
182. *Verhaeverbeke I., Mets T., Mulkens K., Vandewoude M.* Normalization of low vitamin B-12 serum levels in older people by oral treatment // *J. Am. Geriatr. Soc.* – 1997. – Vol. 45 (1). – P. 124-125.
183. *Wang T. T., Nestel E. P., Bourdeau V.* et al. Cutting edge: 1,25-dihydroxyvitamin D3 is direct inducer of antimicrobial peptide gene expression // *J. Immunol.* – 2004. – Vol. 173 (5). – P. 2909-2912.
184. *Zasloff M.* Fighting infections with vitamin D // *Nat. Med.* – 2006. – Vol. 12 (4). – P. 388-390.
185. *Zanetti M.* Cathelicidins, multifunctional peptides of the innate immunity // *J. Leuk. Biol.* – 2004. – Vol. 75 (1). – P. 39-48.
186. *Liu P. T., Stenger S., Li H.* et al. Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response // *Science.* – 2006. – Vol. 311 (5768). – P. 1770-1773.
187. *Tiabringa G. S., Aarbiou J., Ninaber D. K.* et al. The antimicrobial peptide LL-37 activate innate immunity at the airway surface by transactivation of the epithelial growth factor receptor // *J. Immunol.* – 2003. – Vol. 171 (2). – P. 6690-6696.
188. *Cross H. S., Kallay E.* Regulation of the colonic vitamin D system for prevention tumor progression: an update // *Future Oncology.* – 2009. – Vol. 5 (4). – P. 493-507.
189. *Khorchide M., Lechner D., Cross H. S.* Epigenetic regulation of vitamin D hydroxylase expression and activity in normal and malignant human prostate cells // *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* – 2005. – Vol. 93 (2-5). – P. 167-172.
190. *Essa D., Denzer N., Mahlknecht U.* et al. VDR micro RNA expression and epigenetic silencing of vitamin signaling in melanoma cells // *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* – 2010. – Vol. 121 (1-2). – P. 110-113.
191. *Cannel J. J., Zasloff M., Gardland C.* et al. On the epidemiology of influenza // *Virology J.* – 2008. – Vol. 5 (1). – P. 29-41.

192. *Lagishetty V., Misharin A. V., Liu N. Q. et al.* Vitamin D deficiency in mice impairs colonic antibacterial activity and predisposes to colitis // *Endocrinol.* – 2010. – Vol. 151 (6). – P. 2423–2432.

193. *Bao B.-Y., Ting H.-J., Hsu J.-W., Lee Y.-F.* Protective role of  $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> against oxidative stress in nonmalignant human prostate epithelial cells // *Int. J. Cancer.* – 2009. – Vol. 122 (12). – P. 2699–2706.

194. *Wejse C., Gomes V. F., Rabna P. et al.* Vitamin D as a supplementary treatment for tuberculosis: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2009. – Vol. 179 (9). – P. 843–580.

195. *Ahmed M. S., Shoker A.* Vitamin D metabolites, protective versus toxic properties: molecular and cellular perspectives // *Nephrol. Rev.* – 2010. – Vol. 2. – P. e5.

196. *Michara M., Uchiyama M.* Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test *Anal. Biochem.* – 1978. – Vol. 86 (1). – P. 271–278.

197. *Николайчик В. В., Моин В. М., Курковский В. В. и др.* Способ определения «средних молекул» // *Лаб. дело.* – 1991. – № 10. – С. 13–18.

198. *Габрилович М. И.* Определение концентрации молекул средней массы плазмы крови скрининговым методом. – Нальчик: КБГУ, 1998. – 8 с.

199. *Частная вирусология: руководство* / ред. В. М. Жданова, С. Я. Гайдамович. – М.: Медицина, 1982. – Т. 2. – 520 с.

200. *Медицинская микробиология* / гл. ред. В. И. Покровский, О. К. Поздеев. – М.: ГЭОТАР Медицина, 1999. – 1200 с.

## ГЛАВА 6. ЭТИЛОВЫЙ АЛКОГОЛЬ И АЛКОГОЛИЗМ: НОВАЯ ПАРАДИГМА

Алкогольсодержащие напитки и синдром алкогольной зависимости известны со времен древних цивилизаций Европы и Азии. И если алкогольные напитки большинством культур не отвергались, не запрещалось их использование в культовых, ритуальных отправлениях и в быту, то болезненная зависимость от алкоголя повсеместно и во все времена подвергалась осуждению. Такая однотипность реакции разных культурно-этнических социумов обусловлена тем, что пристрастие к алкогольсодержащим напиткам с неизбежностью приводило к различным отрицательным последствиям и для самого больного, и для общества. Общепринято представление о том, что социально-экономические факторы существенно влияют на распространенность алкоголизма среди необеспеченных слоев населения: неудовлетворительные жилищные условия, недостаточное и однообразное питание, отсутствие и недоступность культурных развлечений, безысходность — причины тяжелого бытового пьянства. Вместе с тем еще с XIX века известно, что и с повышением материального благополучия наблюдается рост уровня алкоголизма. Весомы и психологические причины алкоголизации — совокупность мотивов, побуждающих отдельных субъектов к употреблению спиртного. Трудности адаптации к условиям среды, одиночество, невостребованность, утомление, робость, осознание своей неполноценности в каком-либо отношении и т. п. вызывают состояние психоэмоционального дискомфорта, который временно может быть нивелирован алкогольсодержащими напитками [1–8].

Вышеизложенное подтверждается динамикой алкоголизации населения России на фоне смены политико-идеологических догм, социально-экономических неурядиц последнего четвертьвекового периода. Вместе с тем не находит объяснения тот факт, что с середины XX столетия рост распространенности алкогольной зависимости приобрел поистине драматический и глобальный характер, процесс приобрел черты пандемии и коснулся как промышленно развитых государств с высоким уровнем социального и материального благополучия, так и стран «третьего мира». Фактом можно считать и то, что, несмотря на более чем вековое внимание экспериментаторов и клиницистов к различным аспектам данного психосоматического заболевания, все еще нет четких представлений о патогенетических механизмах формирования алкоголизма, а посему и не предложено достаточно эффективных средств и способов профилактики и терапии алкогольной зависимости.

Осмысливая ситуацию и пытаясь ответить на вопрос, что могло послужить основным модулирующим фактором глобального масштаба, способствующим росту употребления психоактивных веществ (этилового алкоголя в том числе) в течение последних 50–70 лет населением на всех обитаемых континентах, мы неизбежно обращаемся к проблеме антибактериальной терапии, микроэкологического статуса человека и дисбиотическим состояниям.

В последние десятилетия неуклонно возрастало количество публикаций, содержащих новые сведения о составе, становлении, колонизационной резистентности микрофлоры человека, биотрансформации различных химических соединений, физиологических и патологических состояний, ассоциированных

с ней; интенсивно разрабатывались принципы, способы и средства коррекции микробиологических нарушений [9–16]. Посредством молекулярно-генетических приемов установлено, что доминантная симбионтная микрофлора представлена бактероидами, клостридиями, эу-, бифидо-, фузобактериями и лактобациллами, содержание которых достигает  $10^{12-13}$  КОЕ на 1 г содержимого кишечника. Суммарно в просвете кишечной трубки взрослого человека может находиться от 1,0 до 3,5 кг бактерий многих сотен видов (большинство из которых не удастся культивировать [14, 15]), при этом содержание анаэробов в сотни раз превышает количество аэробных микроорганизмов [10, 16]. И общее количество генов, обнаруживаемых у всех бактериальных представителей нормальной кишечной микрофлоры, на порядок превышает аналогичный показатель генома человека, а значительная часть генов людей (0,5%) имеет микробное происхождение [17, 18]. Именно поэтому не вызывает особого удивления факт параллельного существования однотипных молекул взаимораспознавания — лектинов (углеводсвязывающие белки) и адгезинов — у бактерий и их хозяина, участвующих во взаимном влиянии на различных уровнях организации экосистемы «бактерии–человек». В этом процессе взаимодействия, обуславливающего, в частности, колонизационную резистентность лактобацилл и бифидобактерий с энтероцитами, различают два типа контактов взаимоидентификации:

- а) лектины бактериальной стенки — гликоконъюгаты поверхности эпителиальной выстилки;
- б) гликаны поверхности микроорганизма — лектины цитоплазматической мембраны энтероцитов [19–21].

Обращает на себя внимание определенное структурно-функциональное сходство многих цитокинов человека (ИЛ-1, ИЛ-2 и др. интерлейкинов) с лектинами лакто- и бифидобактерий. Цитокины в обязательном порядке содержат лектиновые домены и эпитопы, проявляют выраженные углеводсвязывающие свойства, тогда как лектины бактерий обладают качествами цитокинов. В частности, бактериальные экстракты, содержащие пептидогликаны, способны взаимодействовать с рецепторами  $\beta$ -глюкана цитоплазматических мембран иммунокомпетентных и эпителиальных клеток, изменять интенсивность продукции одного из главных цитокинов — TNF- $\alpha$ , а также IFN- $\alpha$  — и обладают иммуномодулирующей, цитопротективной и ранозаживляющей активностями [9, 22–24]. По-видимому, именно данные специализированные сигнальные молекулы гликопротеиновой природы и адгезивные рецепторы клеток обеспечивают клеточный, тканевой, органный и организменный уровень эффектов персистенции симбионтных микроорганизмов, а также противомикробное и модулирующее влияние на них макроорганизма хозяина.

В желудочно-кишечном тракте человека микроорганизмы локализуются на гликокаликсе эпителиальных клеток, в глубоком слое мукозного геля крипт, в толще мукозного геля и в просвете кишечника. Вследствие многоплановой и разветвленной системы кооперационных связей между разнообразными микробными популяциями, попадающие в организм естественным путем нутриенты в результате энзиматической и микробной трансформации превращаются через каскад биохимических реакций в промежуточные, либо конечные продукты с той или иной биологической активностью. Таким образом, микрофлора, постоянно или временно присутствующая в желудочно-кишечном тракте, вносит значительный вклад в отправление физиологических функций че-

ловеческого организма. По сути дела, в естественных условиях нет ни одного биохимического процесса, ни одной функции организма, которые бы осуществлялись без прямого либо опосредованного участия в них симбионтных микроорганизмов [10, 25–28].

**Функции микрофлоры пищеварительного тракта [10]:**

- морфокинетическое действие;
- регуляция газового состава, редокс-потенциала, pH, реологических характеристик;
- участие в водно-солевом обмене, фракционирование изотопов химических элементов;
- процессинг пищевых продуктов (обеспечение первичной иммунологической толерантности к пищевым антигенам);
- участие в метаболизме белков, жиров и углеводов;
- участие в обеспечении эукариотических клеток энергией;
- терморегулирующая функция;
- регуляция рециркуляции желчных кислот и других макромолекул;
- продукция биологически активных соединений (аминокислоты, пептиды, амины, гормоны, витамины, жирные кислоты, дефензины, нейропептиды, оксид азота, другие микробные модулины);
- иммуногенная роль;
- обеспечение колонизационной резистентности;
- регуляция симбиоза прокариотических и прокариото-эукариотических клеток;
- модуляция функции цитохрома P-450 в печени и продукция P-450-схожих цитохромов;
- детоксикация экзогенных и эндогенных токсических субстанций и соединений;
- мутагенная/антимутагенная активность;
- регуляция поведенческих реакций, аппетита, сна, настроения, циркадных ритмов;
- хранилище микробного генетического материала;
- регуляция репликации и фенотипической экспрессии генов прокариотических и эукариотических клеток;
- регуляция программированной клеточной гибели эукариотических клеток (апоптоз);
- участие в этиопатогенезе заболеваний.

На жизнеобеспечение микрофлоры кишечника в среднем расходуется до 10% поступившей с нутриентами энергии и 20% всей принятой пищи. Оценивая значимость симбионтных микроорганизмов как биогенного фактора, с которым ассоциировано здоровье и развитие разнообразных заболеваний, некоторые авторы, исходя из того, что нормальная микробиота: а) морфологически четко структурирована в виде биопленки, состоящей из бактериальных полимеров и муцина, в каркасе которой в несколько слоев иммобилизованы микроколонии определенных видов бактерий; б) выполняет присущие только ей функции; в) имеет свои собственные болезни — убедительно предлагают рассматривать совокупность всех микробиоценозов человека как своеобразный экстракорпоральный орган [10, 29, 30]. Под влиянием антимикробных, противовоспалительных и некоторых иных фармакологических препаратов, биологических

и технологических пищевых добавок, промышленных ядов, пестицидов, радиации, других стресс-индуцирующих факторов (в том числе психоэмоциональной природы), по интенсивности воздействия превышающих компенсаторные возможности одной из составляющих экологической системы «организм хозяина — симбионтный микробиом», формируются той или иной степени выраженности нарушения равновесия этой системы, сопровождающиеся различными медико-биологическими и социальными последствиями.

Перечень заболеваний и патологических синдромов, для которых получены доказательства этиопатогенетической роли микроорганизмов, постоянно или временно ассоциированных со слизистыми оболочками и кожными покровами человека, достаточно обширен (табл. 13). Скорее всего, этот список в последующем будет только пополняться.

Клинические синдромы и состояния, этиопатогенез которых может быть обусловлен нарушением состава и функций микрофлоры человека [10]:

- диареи, запоры, колиты, синдром раздраженной кишки;
- гастриты, дуодениты, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки;
- гипо- и гипертензия;
- острая мезентериальная ишемия;
- коагулопатии;
- ревматоидный артрит, спондилиты, поражения суставов и соединительной ткани;
- злокачественные новообразования желудка, толстой кишки, молочной железы;
- нарушения менструального цикла;
- кариес, пародонтоз;
- мочекаменная и желчнокаменная болезни;
- бронхиальная астма, атопические дерматиты, аллергические состояния;
- портосистемная энцефалопатия;
- оппортунистические эндо- и суперинфекции различной локализации;
- подагра и другие нарушения водно-солевого обмена;
- инсулиннезависимый сахарный диабет;
- синдром «трансплантат против хозяина»;
- бесплодие, преждевременные роды;
- неонатальная анемия, кахексия;
- снижение эффективности гормональных противозачаточных средств.

В качестве примера стресс-индуцированного формирования нарушений микроэкологического статуса можно привести данные о влиянии хронического (в течение двух месяцев) высокоинтенсивного шума, в спектре которого доминировали низкочастотные акустические колебания, на качественный и количественный состав микрофлоры кишечника, а также на структурно-функциональное состояние эпителиальных клеток слизистой оболочки толстой кишки модельных биологических объектов. Низкочастотные акустические колебания, не оказывая прямое повреждающее действие на микрофлору, способствовали возникновению значительных отклонений показателей, характеризующих состояние микробиоценоза толстой кишки экспериментальных животных. Выраженность изменений со стороны кишечного микробного пейзажа чаще всего зависела от интенсивности стресс-индуцирующего фактора (при уровнях зву-

кового давления 120 и 150 дБ), но в ряде случаев динамика более значимо проявлялась при уровне звукового давления 120 дБ. Важно отметить, что по прошествии двух недель после окончания воздействия низкочастотных акустических колебаний выявленные нарушения микробиоценоза толстой кишки в основном сохранялись, а изменения со стороны строго анаэробной микрофлоры во всех сериях экспериментов даже усугублялись [31]. При проведении специального морфологического и биохимического исследования, у животных, подвергнутых хроническому воздействию низкочастотных акустических колебаний, отмечали существенные изменения cito- и гистоархитектоники слизистой оболочки дистального отдела кишечника, сопровождавшиеся снижением слизиобразования и количества активно функционирующих бокаловидных клеток, уменьшением уровня РНК в цитозоле энтероцитов, что соответствовало нарушениям синтеза белка в них [32]. Исходя из этого естественно предположение о том, что при данных обстоятельствах изменяется экспрессия углевод-связывающих белков (лектинов) и гликанов (факторов обеспечивающих колонизационную резистентность со стороны энтероцитов), нарушаются взаимокоммуникационные связи и взаимоотношения в системе «бактерия-макроорганизм», ухудшаются условия колонизации кишечной трубки нормальной микрофлорой.

Чрезвычайно жесткое воздействие хронического стресс-индуцирующего фактора (низкочастотных акустических колебаний) на организм животных, инициирующее выраженные изменения микробиоценоза кишечника, появление в просвете пищеварительного тракта условно патогенных штаммов микроорганизмов [31], естественно, не могло не сопровождаться изменениями функции микрофлоры ЖКТ. В плане рассматриваемого вопроса следует акцентировать внимание на том, что нормальной микрофлорой кишечника синтезируются такие субстанции, как нейромедиаторные амины (серотонин, норадреналин, гистамин, тирамин) и аминокислоты ( $\beta$ -аланин, аспарагиновая, глутаминовая,  $\gamma$ -аминомасляная кислоты), пептиды (инсулин, кальцитонин, глюкагон, гонадотропин, гонадотропин-релизинг фактор- $\alpha$ , релаксин, соматостатин, тимозин  $\alpha$ 1, тиротропин,  $\beta$ -эндорфин), стероиды (эстрадиол, прогестерон), оксид азота, лиганды бензодиазепиновых рецепторов, этиловый алкоголь, морфиноподобные и другие соединения, оказывающие модулирующее влияние на психоэмоциональный статус человека [28, 33–39].

Воздействию стрессорных факторов разной природы человек подвергался во все периоды биосоциальной эволюции. Но в XX столетии произошли значимые качественно/количественные изменения в спектре стресс-индуцирующих воздействий: перманентно действующими и лидирующими стали информационная перегруженность и необходимость принятия ответственных решений в условиях дефицита времени и информации, экологическое неблагополучие и профессиональные вредности различной природы. При этом интенсивность давления большинства стресс-индуцирующих факторов до последнего времени только увеличивалась. К сказанному надо добавить, что с середины XX столетия качественно новой, мощной, действующей в глобальных масштабах причиной формирования дисбиотических состояний, придания им стойкого характера стало появление и часто бесконтрольное применение антибактериальных препаратов.

Открытие антибактериального эффекта сульфаниламидов Герхардом Домагком (Нобелевская премия 1939 года [39]), антимикробного действия

пенициллина Александром Флемингом (Нобелевская премия 1945 года [40]) и стрептомицина Зельманом Ваксманом (Нобелевская премия 1952 года [41]) дало в руки врачей мощные средства против многочисленных инфекций. Появление сульфаниламидов и антибиотиков по праву было встречено как революция в медицине, а их создатели признаны одними из главных благодетелей человечества. Однако проявились и отрицательные последствия использования антибактериальных препаратов: цитотоксичность (в частности, ототоксичность макролидов и аминогликозидов [42–45]), бесконтрольное применение антибиотиков ускорило появление штаммов микроорганизмов, устойчивых к большинству из них и способствовало формированию дисбиотических состояний. Антибактериальные препараты способны формировать дисбиотические состояния сами по себе и кардинальным образом усиливать дисбиотические эффекты других стрессоров.

С учетом того, что распространенность микробиологического дисбаланса в популяции россиян превышает 90% [51, 52], очевидно, насколько важно приостановить разрушение их микробиологического статуса. Дальнейшее игнорирование или недопонимание роли симбионтных микроорганизмов в поддержании здоровья людей существенно замедляет разработку новых конструктивных подходов и приемов профилактики и лечения многих так называемых неинфекционных болезней цивилизации (алкоголизма и наркомании в том числе) [10].

Так каким же образом можно представить себе патогенез формирования дисбиотических состояний в условиях хронического стресса? Термин «стресс», как известно, ввел в физиологию канадский исследователь Ганс Селье, когда в статье «Синдром, вызываемый разными повреждающими агентами», опубликованной в журнале «Nature», впервые обозначил это явление [46]. Позже он охарактеризовал это состояние как «общий адаптационный синдром», т. е. «как общую неспецифическую нейрогормональную реакцию организма на любое предъявленное ему требование» [46–49]. В общем виде в настоящее время стресс применительно к человеку определяется как состояние организма, всегда возникающее при воздействии на него стрессоров различной (физической, химической, биологической, психоэмоциональной) природы, характеризующееся нарушением гомеостаза [50]. Следовательно, стресс — состояние нарушенного гомеостаза и функционального напряжения регуляторного комплекса поддержания постоянства параметров внутренней среды (стресс-реализующей системы, стресс-системы).

Системные эффекты хронического стресса — снижение массы тела, возрастание уровня глюкокортикоидов в крови, нарушение функций иммунной, сердечно-сосудистой и пищеварительной систем — твердо установленные научные факты [53–60]. Известна вместе с тем и ассоциированность хронического стресса с изменениями психоэмоционального статуса [27, 61]. Но до последнего времени представления о молекулярных механизмах, обеспечивающих такую причинно-следственную взаимосвязь, были весьма и весьма туманными. Высокий уровень кортикостерона в крови в условиях хронического стрессорного воздействия мог свидетельствовать об активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси [62–64]. Обнаружение феномена мимикрии всех системных стресс-индуцированных изменений в организме при хроническом введении кортикотропин-релизинг фактора (гормона) подтвердило правильность предположения о стресс-зависимой активации гипоталамо-гипофизарно-надпочеч-



никовой системы и в какой-то степени прояснило картину биохимических механизмов формирования этих изменений [65, 66].

Стресс-реализующая система координирует процессы гомеостатирования в различных условиях и играет ключевую роль в инициации и сопряжении всех изменений в организме, составляющих адаптивную реакцию на стрессоры. Она состоит из центрального звена и двух периферических частей, осуществляющих связь центра со всем организмом. Центральное звено, запускающее работу стресс-системы, локализовано в гипоталамусе, других отделах ствола мозга и объединяет три группы нейронов:

- 1) нейроны паравентрикулярного ядра гипоталамуса, которые экспрессируют кортикотропин-релизинг-гормон (КРГ), стимулирующий секрецию адренотропного гормона (АКТГ) в гипофизе, и тем самым активируют гипоталамо-гипофизарно-адреналовую ось;
- 2) нейроны паравентрикулярного ядра гипоталамуса, вырабатывающие гормон аргинин-вазопрессин (АВ), и КРГ-нейроны в ядрах медуллы;
- 3) группы нейронов, синтезирующих катехоламины, главным образом норадреналин (НА), в стволе мозга, среди которых ключевую роль играет центр НА-нейронов — синее пятно.

Периферические ветви стресс-реализующей системы представлены двумя основными отделами:

- а) гипоталамо-гипофизарно-адреналовой «осью», которая активируется КРГ и конечными эффекторами которой являются гормоны глюкокортикоиды, выделяющиеся из коры надпочечников под влиянием АКТГ;
- б) симпатoadреналовой системой, в которую входит симпатическая часть вегетативной нервной системы (иннервирующая все органы и ткани) и мозговое вещество надпочечников, конечными продуктами этой ветви являются катехоламины — НА и адреналин [50, 68–72].

Стресс-реализующая система получает информацию о состоянии окружающей среды и организма через разнообразные сенсорные системы и кровотоки, от коры головного мозга — через амигдалу и гиппокамп, а от подкорковых образований — через кортиколимбические структуры [50]. Основным результатом активации стресс-системы является увеличение выброса глюкокортикоидов и катехоламинов — главных стресс-гормонов, ответственных за адаптацию. Но помимо данных медиаторов реализации стрессорного ответа, в формирование реакции адаптации вовлечены также сигнальные молекулы, потенцирующие или модулирующие эффекты мессенджеров стресс-реализующей системы, механизмы действия которых пока недостаточно изучены: ангиотензин II [73–75], цитокины (в том числе интерлейкины) [76, 77], тахикины — нейропептид Y, субстанция P [78–80] и др. В качестве стартового фактора стресс-индуцированной стимуляции тонуса гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси выступает кортикотропин-релизинг фактор.

Кортикотропин-релизинг фактор (КРФ, КРГ) представляет собой полипептид, состоящий из сорока одного остатка аминокислот, который экспрессируется в срединном возвышении гипоталамуса и через порталный кровоток поступает в переднюю долю гипофиза. В питуитарной железе под влиянием КРФ стимулируется синтез и секреция адренотропного гормона (АКТГ, кортикотропин). АКТГ, в свою очередь, посредством аденилатциклазного механизма стимулирует продукцию и поступление в кровь гормонов

коры надпочечников — глюкокортикоидов, эстрогенов и андрогенов [81–83]. Физиологические эффекты кортикотропин-релизинг гормона и родственных ему нейропептидов урокортина-1, -2, -3 (UcnI, UcnII, UcnIII) реализуются при их взаимодействии с G-сопряженными рецепторами КРФ (CRF-Rs) двух типов: CRF-R1 и CRF-R2 [84–88], локализованных на клеточных элементах ЦНС и периферических тканей [89]. CRF и UcnI с высокой степенью сродства взаимодействуют как с CRF-R1, так и с CRF-R2, а UcnII и UcnIII представляют собой селективные лиганды CRF-R2 [84–86]. Активация G-сопряженных клеточных CRF-рецепторов может вести к индукции множества сигнальных путей (MAPK, PK, ERK1/2), которые по-разному изменяют физиологическое состояние нейронов, эндотелиоцитов, эпителиальных, эндокринных и иммунокомпетентных клеток [90–93]. Различие клеточных эффектов, индуцируемых данными нейропептидами, определяется и модифицируется множеством факторов: субтипом активируемых рецепторов, их тканевой локализацией, условиями окружающей среды [94], уровнем в биосредах секретируемого CRF-связывающего белка (CRF-VP) [95, 96] и наличием сплайс-вариантов рецепторов, отличающихся степенью сродства к лигандам и/или способностью трансдуцировать сигнал [94, 97, 98].

Кортикотропин-релизинг фактор и родственные нейропептиды, оба субтипа рецепторов КРФ (CRF-R1 и CRF-R2) экспрессируются разнообразными клетками кишечника [99], включая клеточные элементы слизистой оболочки и вегетативной нервной системы желудочно-кишечного тракта. CRF и урокортины центрального происхождения на периферии контролируют активность вегетативной нервной системы кишечника, опосредуя центральное влияние стрессоров на функциональное состояние ЖКТ [100]. Парентеральное введение CRF, урокортинов стимулирует кишечную моторику [101] и данный эффект не модулируется ганглиоблокаторами, так как действие реализуется на уровне периферических нейронов [102]. Кроме того, системное введение кортикотропин-релизинг фактора и урокортинов мимикрирует стресс-индуцированное изменение функционального состояния энтероэндокринных [103], иммунных клеток (включая мастоциты, лимфоциты и макрофаги) [104–109], бокаловидных экзокриноцитов [110, 111] и других эпителиоцитов [112]. В результате изменяются секреторная функция, проницаемость эпителиальной выстилки кишечника и колонизационная резистентность желудочно-кишечного тракта [65, 113–116].

Если до недавнего времени предполагалось, что нормальная кишечная микробиота людей в основном представлена комменсалами (не приносящими ни вреда, ни пользы микроорганизмами), то в последние десятилетия взаимоотношения организма хозяина (макроорганизма) и его симбионтной микрофлоры стали рассматриваться как мутуалистические (взаимовыгодные) [117–119]. Мутуалистическая ассоциация биологических организмов предполагает наличие реципрокной (лат. *reciprocus* — взаимный) коммуникации между ними, что и установлено в последние годы [120]. Воспринимая сигнал присутствия симбионтного микроорганизма (посредством распознавания паттерна спектра гликанов бактериальной стенки), макроорганизм, экспрессируя специфические гликоконъюгаты, доставляя в биотоп растительные полисахариды, обеспечивает симбионтов нутриентами и предоставляет возможность фиксироваться на кишечной стенке. Эти «нерациональные» траты компенсируются за счет получения организмом хозяина необходимых ему продуктов бактериальной ферментации (в том числе модулирующих психоэмоциональный статус) и факторов защиты

от патогенных бактерий. Гликаны, синтезируемые симбионтным микроорганизмом, необходимы ему для взаимодействия с рецепторными системами макроорганизма и персистенции в микрoэкологической нише. Считается, что именно координируемый синтез и катаболизм гликоконъюгатов обеспечивают возможность формирования и поддержания мутуалистических взаимоотношений между организмом млекопитающего и его симбионтной микробиотой [121, 122].

Важную роль в обеспечении толерантности макроорганизма относительно присутствия в желудочно-кишечном тракте грамотрицательных комменсалов выполняет кишечная щелочная фосфатаза, экспрессируемая на апикальной части цитоплазматической мембраны зрелых энтероцитов. Обладая способностью дефосфорилировать липополисахарид энтеробактерий, щелочная фосфатаза понижает инталуминальный уровень эндотоксина, т. е. обеспечивает детоксикацию внутрикишечной среды [123–126]. Экспрессия кишечной щелочной фосфатазы подавляется провоспалительными цитокинами, при стрессе (голод, хирургическая травма, ишемия-реперфузия сегментов кишечника и т. п.) [125, 127–130], модулируется гормонами коры надпочечников [131].

Важным следствием стресс-индуцированного угнетения экспрессии щелочной фосфатазы энтероцитами (помимо увеличения уровня липополисахарида в кишечном содержимом, нарушения абсорбции липидов) является резкое снижение содержания неорганического фосфата в кишечнике. Низкий уровень неорганического фосфата побуждает условно-патогенные микроорганизмы экспрессировать вирулентный фенотип [132–134], результатом чего является нарушение барьерной функции слизистой оболочки кишечника и утрата колонизационной резистентности [132–135].

Следует подчеркнуть, что генная экспрессия кортикотропин-релизинг фактора клеточными элементами кишечной стенки в условиях стресса стимулируется не только кортикостероидами [136], но и кортикостероид-независимым путем под влиянием эндотоксина (липополисахарида) грамотрицательных бактерий [136] и энтеротоксина А грамположительных *Clostridium difficile*. Токсин А *C. difficile*, кроме того, самым значимым образом увеличивает экспрессию и рецепторов кортикотропин-релизинг фактора (CRF-R1 и CRF-R2) клеточными элементами кишечной стенки [137–139].

Таким образом, желудочно-кишечный тракт представляет собой особо чувствительную к стресс-индуцирующим воздействиям систему. Поскольку кишечник млекопитающих обладает собственной вегетативной нервной системой («маленьким мозгом» [100]), обильно экспрессирующей рецепторы кортикотропин-релизинг фактора (CRF-R1 и CRF-R2), сам КРГ [99] и нейромедиатор норадреналин [140], постольку в условиях хронического стресса в модулировании функционального состояния ЖКТ значимая роль принадлежит не только системным стресс-ассоциированным факторам, но и локальным медиаторам (катехоламины, цитокины, хемокины). В частности, под влиянием норадреналина, при стрессе обильно секретируемого вегетативной нервной системой кишечника, изменяется фенотип кишечной микробиоты, формируется aberrантный микробиом [141–143]. Перечисленные феномены, по-нашему мнению, и предопределяют приобретение стресс-модифицированным микробиоценозом кишечника характера самоподдерживающегося, мощного и длительно действующего стресс-индуцирующего фактора. А характерная черта микрoэкологического дисбаланса — нарушение метаболической кооперации между

организмом хозяина и его микробиомом, проявляющееся, в частности, изменением бактериальной экспрессии психомодулирующих субстанций.

Активность и реактивность стресс-системы контролируется двумя основными путями: реакциями самооптимизации и посредством внешней регуляции. Механизм саморегуляции осуществляется за счет влияния друг на друга компонентов самой системы, а также по принципу отрицательной обратной связи, когда медиаторы, вырабатываемые в системе, ограничивают свою собственную продукцию. Внешняя регуляция обеспечивается через стресс-лимитирующие системы, структурно не входящими в состав стресс-реализующей системы, но тесно с ней связанными. К основным центральным стресс-ограничителям относятся:

- а) ГАМК-ергическая система (совокупность нейронов, продуцирующих  $\gamma$ -амино-масляную кислоту – ГАМК), оказывающая тормозное влияние на нейроны головного и спинного мозга;
- б) опиоидергическая система, объединяющая нейроны в гипоталамусе и секреторные клетки в гипофизе, выделяющие опиоидные пептиды (ОП), также оказывающие тормозные эффекты.

Высвобождающиеся после активации стресс-реализующей системы НА, КРГ и АВ стимулируют ГАМК- и ОП-нейроны, увеличивая секрецию соответствующих нейротрансмиттеров, которые, в свою очередь, ограничивают тонус стресс-системы в целом [144–148]. В плане рассматриваемого вопроса следует учитывать не только ингибиторное влияние ГАМК, но и иметь в виду значимость агонистов бензодиазепиновых рецепторов (последние в заметных количествах синтезируются симбионтной микрофлорой кишечника) как модуляторов функций КРГ-нейронов, которые, как утверждается [149], координируют эндокринные, метаболические и поведенческие реакции организма на стрессоры. Это стресс-лимитирующее влияние ГАМК и бензодиазепинов реализуется, главным образом, посредством угнетения высвобождения КРГ из терминалей КРГ-нейронов [148].

Тормозное действие ГАМК на катехолинергическое звено стресс-системы осуществляется не только в ЦНС, но и на периферии [150–153]. Установлено, что в гипофизе АКТИГ и ОП ( $\beta$ -эндорфины) образуются из общего предшественника (проопио-меланокортина) [152, 154], доказана везикулярная ко-локализация катехоламинов и энкефалинов в надпочечниках [155], вазопрессина и динорфина – в нейронах гипоталамуса [156], глюкокортикоидов и энкефалинов – в коре надпочечников. В результате выброс стресс-гормонов может сопровождаться выбросом опиоидов и интенсивность этого выхода всегда пропорциональна степени активации стресс-реализующей системы. В частности, на фоне кратковременного стрессорного воздействия зарегистрировано увеличение содержания эндорфинов в гипофизе [154, 157], гипоталамусе [158], коре головного мозга [159], уровня энкефалинов – в гипоталамусе [158, 160] при однонаправленной динамике концентрации опиоидных пептидов в крови [161–163].

Однако в случае длительного избыточного напряжения стресс-реализующей системы возможно истощение стресс-лимитирующих механизмов. В качестве иллюстрации можно указать на то, что при хроническом стрессе наблюдается отрицательная динамика содержания ОП в биосредах организма [164]. Поскольку основные медиаторы стресс-лимитирующей системы (ГАМК и ОП) обладают выраженными психомодулирующими эффектами, их дефицит в соот-

ветствующих структурах ЦНС должен проявляться известными изменениями со стороны психоэмоциональной сферы. Не удивительно, что при хронической активации гипоталамо-гипофизарно-адреналовой оси и симпатического отдела вегетативной нервной системы формируется пониженный фон настроения вплоть до меланхолической депрессии с такими симптомами, как тревога, подавление пищевых и сексуальных реакций, гипертензия, тахикардия [67, 165].

Изменения нейрогуморальной регуляции при хроническом стрессе могут вызывать так называемые психосоматические расстройства, а также стимулировать уже имеющиеся заболевания: провоцировать поражения сердечно-сосудистой системы [168–175], вызывать дисфункцию механизмов иммунореактивности [68, 166, 167, 176], нарушения психического статуса [177–179] и повреждения желудочно-кишечного тракта [180–182]. Относительно функций печени, язвенных поражений, нарушений моторных и секреторных функций желудочно-кишечного тракта стрессорного генеза получено множество экспериментальных и клинических данных, и эта информация продолжает интенсивно накапливаться. Систематизация имеющейся информации по проблеме позволила предложить схемы патогенеза, профилактики и коррекции стресс-индуцированной патологии ЖКТ, в том числе при острых интоксикациях [180].

В последнее время с проблемой хронического стресса все отчетливее стал ассоциироваться микрoэкологический дисбаланс. Вероятно, важнейшими аспектами проблемы дисбиотических состояний, определяющими диагностические и оценочные возможности, направления профилактики и коррекции, являются вопросы, связанные с молекулярными механизмами регуляции экспрессии энтероцитами лектинов и гликанов на их цитоплазматической мембране; с различными проявлениями взаимовлияния макро- и микроорганизмов и молекулярными механизмами этих эффектов, в том числе модулирующих психоэмоциональную сферу. В качестве промежуточного итога формирования представлений об ассоциированности состояния кишечного микробиома и психоэмоционального статуса в условиях хронического стресса, имеющего характер рабочей гипотезы, можно сформулировать следующие положения:

- при хроническом стрессе формируется дисбаланс нейрогуморальных факторов, регулирующих экспрессию лектинов и гликоконъюгатов на цитоплазматической мембране энтероцитов и непосредственно влияющих на фенотип микроорганизмов, заселяющих кишечник;
- изменение спектра гликанов и лектинов, экспрессируемых эпителиальными клетками снижает колонизационную резистентность симбионтной микрофлоры;
- стресс-индуцированная динамика микрoэкологического пейзажа сопровождается качественными и количественными изменениями спектра физиологически активных соединений, продуцируемых микрофлорой, в том числе уменьшается поступление медиаторов стресс-лимитирующей системы (морфиноподобных субстанций, нейропептидов, бактериальных лигандов бензодиазепиновых рецепторов, этанола и т. п.);
- дефицит медиаторов стресс-лимитирующей системы уменьшает стресс-устойчивость организма, и патогенетически значимыми становятся подпороговые стресс-индуцирующие воздействия; нагрузка на стресс-систему при несостоятельности стресс-лимитирующих механизмов возрастает, что способствует еще большему истощению последних;

- частичное замещение симбионтного микробиома нерезидентной микрофлорой консервирует микрoэкологический дисбаланс посредством активного соперничества между микроорганизмами за доминирование в экологической нише;
- антибиотики могут выступать как в качестве самостоятельного этиологического фактора формирования дисбиотических состояний, так и в качестве эффектора, потенцирующего действие хронического стресса;
- негативная динамика психоэмоционального статуса на фоне хронического стресса — проявление дефицита медиаторов стресс-лимитирующей системы и микрoэкологического дисбаланса.

Таким образом, формируется порочный круг причинно-следственных отношений, с течением времени набирающий все большую стабильность и новое качество — самоподдержание без внешних стрессорных воздействий вследствие стресс-индуцирующей природы аберрантного кишечного микробиома на фоне несостоятельности стресс-лимитирующей системы; одним из появлений данного состояния является потребность в экзогенных средствах, модулирующих психоэмоциональный статус.

Эффективным, доступным и широко используемым модулятором психоэмоционального состояния является этиловый алкоголь. В небольших количествах эндогенный этанол всегда присутствует в биологических средах организма, в крови его концентрация колеблется от 0,0001 до 0,0002 г/л (максимум 0,0008 г/л) [183]. Этиловый алкоголь по своим фармакологическим свойствам относится к группе депрессантов, т. е. соединений, угнетающих ЦНС, и в высоких дозах вызывает седативный и обезболивающий эффекты. В малых дозах этот одноатомный спирт уменьшает чувство страха, вызывает эйфорию, ослабляет тормозные процессы в ЦНС [184, 185], что сопровождается снижением самоконтроля и работоспособности.

В отличие от опиатов, как это ни странно, механизмы реализации фармакологических эффектов этилового алкоголя менее изучены. В соответствии с положениями одной из наиболее известных гипотез — «мембранной гипотезы» — алкоголь, как неполярный растворитель, оказывает дестабилизирующее действие на фосфолипидные мембраны нервных клеток, изменяя их физические свойства посредством увеличения текучести. Однако экспериментальные данные продемонстрировали, что мембранная теория позволяет удовлетворительно объяснить действие только высоких, наркотических доз алкоголя, способных вызвать глубокий седативный и обезболивающий эффекты. В рамках представлений данной гипотезы нет объяснения эффектов малых доз этанола, в частности его способности формировать состояние эйфории и оказывать анксиолитическое действие. Для более детального понимания фармакологических и токсических эффектов этанола, по-видимому, следует подробнее рассмотреть биохимические аспекты проблемы.

Элиминация этанола из организма осуществляется посредством экскреции в неизменном виде и путем биотрансформации. В неизменном виде он удаляется почками, молочными и потовыми железами, с калом и с выдыхаемым воздухом. Принято считать, что биотрансформация этилового алкоголя обеспечивается, в основном, в печени (но не только) по трем путям [186, 187].

1. Окисление в цитозоле гепатоцитов при участии фермента алкогольдегидрогеназы (АДГ) в присутствии NAD до ацетальдегида (рис. 22). В данной ре-

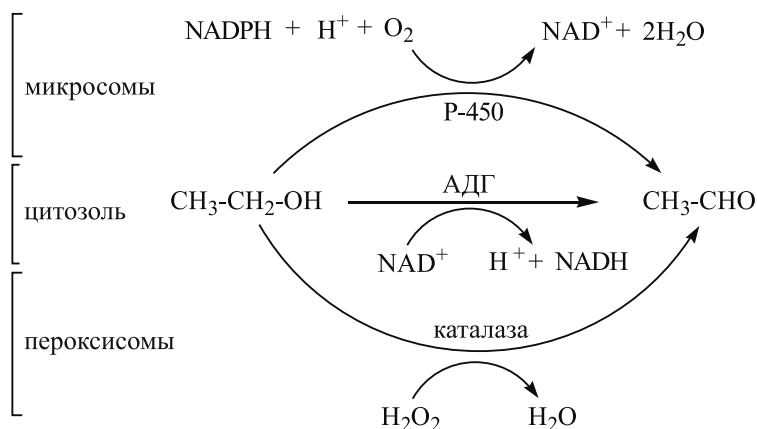


Рис. 22. Пути окислительной биотрансформации этанола [188]

акции утилизируется до 70–80% поступившего в организм здорового человека этанола.

2. Окисление при участии цитохрома P-450 микросомальной монооксигеназной системы. Активность монооксигеназ может индуцироваться этанолом и обеспечивать метаболизирование до 10% общего объема этилового алкоголя.

3. Окисление при участии каталазы и пероксидаз тканей (до 15% алкоголя, больше у больных алкоголизмом).

Накапливается все больше сведений и о еще одной возможности окислительной трансформации этанола — его свободнорадикальном окислении.

Этанол давно признан в качестве эффективной ловушки гидроксильного радикала ( $\cdot\text{OH}$ ), константа скорости реакции с которым характеризуется величиной  $1,9 \cdot 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  [189]. Помимо этого, установлено, что этиловый алкоголь может окисляться как железо-кислородными комплексами, формирующимися при протекании реакции Фентона [190], так и в процессе аутоокисления иона двухвалентного железа [191]. То есть свободнорадикальное окисление этанола в биосредах в присутствии частично восстановленных форм кислорода (пероксида водорода, супероксидного анион-радикала) и металлов переменной валентности будет осуществляться с неизбежностью [192, 193]. Продуктами таких окислительных реакций этилового алкоголя могут быть несколько соединений радикальной природы и вода. Теоретически при дегидрировании этанола могут образоваться три свободных радикала:



Экспериментально уже достаточно давно установлено, что на долю 1-гидрокси-этильного радикала ( $\text{CH}_3\text{C}\cdot\text{HOH}$ ,  $\alpha$ -гидроксиэтил-радикал) приходится более 80% из всех свободнорадикальных форм этанола [194]. 1-гидроксиэтил-радикал может вступать в реакции с белковыми молекулами, модифицируя их структуру [195] (образует антигенные аддукты [196, 197], способствует формированию митохондриальной транзитной проницаемости [198]), с антиоксидантами (глутатионом,  $\alpha$ -токоферолом, аскорбатом), антиоксидантными энзимами, истощая антиоксидантный потенциал [199, 200], и триплетным кислородом.

Продуктами последней реакции будут ацетальдегид и супероксидный анион-радикал [192]:



Таким образом, в присутствии кислорода и ионов металлов переменной валентности свободнорадикальное окисление этанола может приводить к истощению пула антиоксидантов и принимать самоподдерживающийся характер. И особенно негативно повреждающее действие дериватов этанола сказывается на структурно-функциональной организации митохондрий. Это обусловлено рядом обстоятельств:

- нарушением гомеостатирования уровня цитозольного кальция под влиянием этанола [201–204];
- алкоголь-зависимой стимуляцией экспрессии iNOS [205] и, по-видимому, транслокацией энзима в митохондрии [206];
- этанол-ассоциированной стимуляцией экспрессии и активности ксантин-оксидоредуктазы [207], которая обильно представлена не только в цитозоле, но локализована и в митохондриях [208]; ко-локализация энзимов (ксантиноксидоредуктазы и синтазы оксида азота), рециклирующих оксиды азота, продуцирующих супероксидный анион-радикал и оксид азота чревата избыточным генерированием прооксидантов и, в частности, пероксинитрита;
- этиловый алкоголь увеличивает депозицию ионов железа в печени [209–211], которые в условия алкоголь-индуцированного оксидативного стресса быстро транслоцируются из лизосом в митохондрии [212], резко усиливая свободнорадикальное повреждение последних;
- истощение внутримитохондриального пула глутатиона под влиянием алкоголя (снижение происходит быстрее и значительнее, чем в цитозоле) [560], что блокирует активность аскорбата,  $\alpha$ -токоферола и глутатион-зависимых антиоксидантных энзимов;
- митохондриальная ацетальдегиддегидрогеназа — основной энзим детоксикации ацетальдегида в митохондриях [213], теряет эффективность в условиях увеличения соотношения NADH/NAD<sup>+</sup> [214] и полностью утрачивает активность в результате окислительной ковалентной модификации [215];
- нарастающая окислительная инактивация ключевых митохондриальных протеинов сопровождается углубляющейся митохондриальной дисфункцией со всеми вытекающими из этого последствиями [216].

В свете накапливающихся экспериментальных фактов в последнее время начинает пересматриваться и характер участия цитохром Р-450-зависимой монооксигеназной системы в окислительных превращениях этилового алкоголя. При том что скорость микросомального окисления этанола прямо коррелирует с уровнем цитохрома Р-450 [217, 218], продуктом окислительной модификации этанола является 1-гидроксиэтильный радикал [218–220], а главную роль в качестве интермедиата-окислителя при этом играет гидроксил-радикал. Этанол-индуцибельной, вовлеченной в окислительную модификацию не только этилового алкоголя, но и других алифатических спиртов формой цитохрома Р-450 оказалась изоформа СYP2E1 [221]. Образование супероксидного анион-радикала и свободнорадикальных форм этилового алкоголя стимулируется при поступлении на цитохром СYP2E1 электронов как от NADPH, так и NADH [222, 223]. В качестве особенности данной

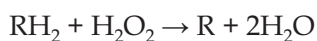


изоформы цитохрома P-450 известно то, что ее восстановленный комплекс с окисляемым субстратом и кислородом относительно легко подвергается декомпозиции с высвобождением супероксидного анион-радикала, в последующем дисмутирующим в пероксид водорода [192]. Таким образом, для микросомальной окислительной трансформации этанола необходимо присутствие пероксида водорода и ионов железа [224], выделяющихся в цитозоль из ферритина в присутствии алкоголя [186], а ткань печени подвергается свободнорадикальной атаке в первую очередь как орган с наиболее высоким уровнем монооксигеназ. Источниками частично восстановленных форм кислорода, эффекторами свободнорадикальной трансформации этанола и повреждения гепатоцитов могут быть и клетки Купфера, активирующиеся при воздействии на них этилового алкоголя, что особенно опасно при хронических и острых воспалительных процессах в печени [225–227]. Следует указать, что под влиянием алкоголя могут активироваться и другие типы тканевых фагоцитирующих клеток. Это, по-видимому, и лежит в основе способности этанола провоцировать обострение при хронических воспалительных процессах.

Как и ткань печени, при алкогольных нагрузках негативную структурно-функциональную динамику претерпевает центральная нервная система. В немалой степени это обусловлено тем, что цитохром P-450 (CYP2E1) конститутивно экспрессируется не только в гепатоцитах, но и в нейронах коры головного мозга, гранулярного слоя мозжечка [228]. Так же как и в гепатоцитах, это индуцибельная изоформа монооксигеназ, — хроническое употребление этанола резко увеличивает экспрессию цитохрома CYP2E1 в клетках нервной ткани [229, 230]. Под влиянием этанола положительная динамика характерна и для уровня CYP2E1 в эндотелиоцитах сосудистого ложа головного мозга; при этом возрастание активности цитохрома P-450 тесно коррелирует с нарастанием проявлений дисфункции гистогематического барьера [231–233].

Особое внимание проблема цитохром P-450-зависимого окисления этанола привлекает в связи с тем, что CYP2E1 представляет собой бимодально локализованную монооксигеназу: активность энзима определяется не только в цитозольных микросомах, но и внутри митохондрий. В ряде случаев уровень активности CYP2E1 в митохондриях может превышать таковой в цитозоле, что особенно негативно проявляется при алкогольной интоксикации [234] в виде митохондриальной дисфункции, ведущей к цитотоксическим эффектам [235]. В целом ряде работ убедительно показано, что на фоне даже умеренной алкоголизации уровень митохондриального CYP2E1 увеличивается весьма существенно [236–238]. Такая динамика сопровождается повреждением митохондриальной ДНК (mtDNA), снижением числа копий кольцевых mtDNA, резким увеличением уровня делеций в ДНК данной органеллы [239–241] и подавлением синтеза белковых субъединиц электрон-транспортной цепи, кодируемых в митохондриальном геноме [242, 243]. По-видимому, именно этанол-ассоциированная митохондриальная дисфункция в значительной степени определяет развитие и энцефалопатии, и когнитивного дефицита на фоне хронической алкоголизации.

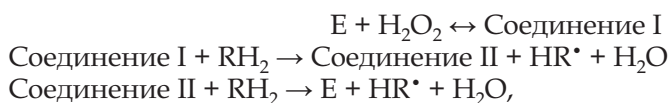
Каталаза и глутатион-зависимые пероксидазы (ферменты геминовой природы) катализируют реакцию, которую в общем виде можно представить следующим образом:



где  $RH_2$  — субстрат-восстановитель; R — окисленная форма субстрата.

Каталаза в качестве субстрата-восстановителя использует вторую молекулу пероксида водорода. В результате энзиматического диспропорционирования  $\text{H}_2\text{O}_2$  образуется триплетный кислород и две молекулы воды. Каталаза представляет собой один из наиболее активных ферментов, на что указывает ее число каталитических оборотов —  $10^8 \text{ мин}^{-1}$  [244]. Данный энзим преимущественно локализован и функционирует в пероксисомах — в органеллах, где и наблюдается основной вал продукции  $\text{H}_2\text{O}_2$  (около 45%), которую необходимо нейтрализовать. Именно поэтому каталаза специализирована для диспропорционирования пероксида водорода в высоких концентрациях. При низких уровнях  $\text{H}_2\text{O}_2$  каталаза использует окислительные эквиваленты пероксида водорода преимущественно для пероксидазного катализа [245], проявляя при этом даже цитотоксические эффекты [246].

Механизм пероксидазной реакции впервые был предложен Б. Чансом [247], что в последующем подтверждено экспериментальными данными [248]:



где E — исходная ферри-форма фермента; соединение I и II — его промежуточные редокс-формы;  $\text{RH}_2$  — субстрат-восстановитель;  $\text{HR}^*$  — первичный свободнорадикальный продукт катализа.

Учитывая то, что редокс-потенциалы соединения I и соединения II примерно равны и составляют около +1,0 В [249], можно полагать — эта группа ферментов специализирована для окисления наиболее устойчивых химических структур [250]. Именно поэтому в случае, если в качестве субстрата-восстановителя утилизируется этанол, продуктом его трансформации в пероксидазных реакциях будут свободные радикалы (главным образом, 1-гидроксиэтильный радикал).

Таким образом, биотрансформация этанола при участии цитохром Р-450-зависимой монооксигеназной системы, каталазы и пероксидаз всегда сопровождается генерированием свободнорадикальных продуктов и, следовательно, опасностью неферментативной (неконтролируемой) ковалентной модификации структуры биомакромолекул, которая при алкогольной интоксикации обусловлена не только действием частично восстановленных форм кислорода, но и эффектами свободнорадикальных производных самого этанола. В частности, под влиянием 1-гидроксиэтильного радикала может формироваться митохондриальная транзитная проницаемость с выходом в цитозоль проапоптотических факторов [251]. Удивительно, но это свойство этилового алкоголя индуцировать оксидативный стресс издавна используется в практической медицине. Этанол, будучи амфифильным соединением, достаточно быстро проникает в толщу кожи и подкожной клетчатки, создавая там относительно высокие концентрации, при наложении полуспиртовых компрессов. Подвергаясь биотрансформации, этиловый алкоголь локально стимулирует умеренный оксидативный стресс, при котором окислительную модификацию претерпевают в первую очередь полиненасыщенные жирные кислоты и их производные, в частности, простагландины. Кроме того, локальное возрастание показателя величины редокс-потенциала (смещение в сторону окислительных значений) сопровождается блокированием активности ядерного фактора NF-kB (стимулирует экс-

прессию провоспалительных факторов) и возрастанием активности фактора транскрипции Nrf2 (стимулирует экспрессию антиинфламаторных факторов). Алкоголь-ассоциированная, реципрокного характера динамика уровней про- и противовоспалительных медиаторов в ткани, естественно, проявляется противовоспалительными эффектами процедуры при начинающихся воспалительных процессах в среднем ухе, коже и подкожной клетчатке.

Прооксиданты, продукты перекисидации этанола и ацетальдегид потенциально способны нарушать эпигенетическую регуляцию экспрессии генов (эпигенотип, эпигенетический код). Под эпигенотипом в настоящее время понимаются системы наследуемых механизмов регуляции экспрессии генов, не затрагивающие последовательность азотистых оснований ДНК. Эпигенетическая регуляция обеспечивается посредством метилирования ДНК, ковалентной модификации структуры гистонов и некодирующими РНК. Повреждение одной или нескольких из систем эпигенетического кода проявляется дисрегуляцией экспрессии генов, ведущей к структурно-функциональной неполноценности клеток, вплоть до их малигнизации, аутоиммунной агрессии, формированию соматической, неврологической патологии [258, 259]. Повреждения эпигенотипа весьма разнообразны, тканеспецифичны и формируются под влиянием неблагоприятных факторов, включая воздействие алкоголя. О последнем косвенно свидетельствует то, что примерно у 5% детей, родившихся от матерей, злоупотреблявших алкогольными напитками, наблюдаются тяжелые формы врожденных аномалий и нервно-психической патологии [260–263].

Метилирование ДНК — перенос метильной группы от S-аденозилметионина (активного метионина, донора метильных групп) на углерод в позиции С5 цитозина динуклеотидов цитозин-гуанин (СрG-динуклеотидов). СрG-динуклеотиды локализуются в определенных регионах генома, получивших название «СрG-островков», включающих не менее 200 пар азотистых оснований, большая часть из которых представлена цитозином и гуанином [264, 265]. ДНК-метилирование обеспечивается ДНК-метилтрансферазами (DNMT 1,2,3A и 3B) и сопровождается блокированием транскрипции определенных генов вследствие конденсации хроматина, увеличением активности репрессоров транскрипции и ингибирования ДНК-связывающей способности активаторов транскрипции [266, 267].

Ковалентная модификация гистонов хроматина кодирует паттерн распознавания для специфических протеинов, стимулирующих либо репрессирующих транскрипцию генов. Гистоны могут подвергаться ацетилированию, метилированию, фосфорилированию, убиквитинированию и сумоилированию, а также претерпевать модификацию обратной направленности. Но в любом случае эти процессы всегда ассоциированы с изменением профиля экспрессии генов [268–270].

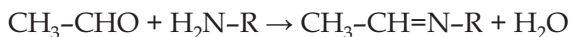
Еще одна система эпигенетической регуляции, наверное, самая древняя (возможно, реликт «мира РНК»), представлена рибонуклеиновыми кислотами — длинными (содержащими более 200 пар нуклеотидов) и малыми (содержащими порядка двух десятков нуклеотидов) некодирующими РНК (ncRNAs). Длинные некодирующие РНК контролируют почти все аспекты транскрипции [271–274], сплайсинг матричных РНК [275], импринтинг генов [276] и даже некоторые аспекты трансляции (например, обеспечивающие синаптическую пластичность и ремоделирование межнейрональных контактов) [277]. Малые некодирующие РНК (miRNA) отличаются способностью репрессировать трансляцию

мРНК, стимулировать деградацию мРНК, влиять на процессы метилирования ДНК и модификации хроматина [278–280].

В плане рассматриваемой проблемы значимо, что этанол модифицирует состояние всех систем эпигенетической регуляции экспрессии генов в различных органах и тканях, включая головной мозг [281, 282]:

- стимулируя активность гистонацетилтрансфераз и ингибируя гистондеацетилазы, изменяет профиль ацетилирования белков хроматина [283–286];
- модулирует паттерн фосфорилирования гистонов [287–289];
- изменяет спектр метилирования гистонов, что, в частности, сопровождается индукцией активности алкогольдегидрогеназы [290, 291];
- вызывая истощение пула S-аденозилметионина [292], оказывая ацетальдегид-опосредованное ингибирующее воздействие на активность ДНК-метилтрансферазы [293] и метионинсинтазы [294–296], формирует фон глобального гипометилирования ДНК [297, 298];
- изменяет профиль экспрессии некодирующих РНК [299–301].

В качестве первичного продукта окислительной трансформации этанола предстает ацетальдегид, фоновый уровень которого в биосредах организма примерно на два-три порядка ниже содержания эндогенного этанола. Ацетальдегид считается основным носителем токсичных качеств этилового алкоголя, поскольку по показателям токсичности превосходит этанол на два порядка [252]. Цитотоксическое действие ацетальдегида (как и других альдегидов) обусловлено высокой реакционной способностью карбонильной группы (C=O) в силу поляризации двойной связи «углерод-кислород», проявляющейся выраженной электрофильностью [253–255]. В отличие от свободнорадикальных интермедиатов этанола, ацетальдегид является стабильным соединением и способен оказывать дистантное действие [256, 257]. Альдегиды (ацетальдегид в том числе) могут вступать во взаимодействие со свободными SH-, NH<sub>2</sub>-группами белков и аминокислот. Неферментативные аминокарбонильные взаимодействия:



приводят к появлению соединений типа шиффовых оснований. Такая ковалентная модификация структуры белков сопровождается изменением их свойств, что находит отражение в нарушениях проницаемости ионных каналов, активности ионных помп, чувствительности рецепторов эндо- и цитоплазматических мембран, активности ферментов и возникновении аутоиммунных реакций. Важную роль алифатические альдегиды играют и в повреждении нуклеиновых кислот. Вследствие ферментативных и спонтанных реакций образуются аддукты нуклеиновых кислот [302–306] и как результат – хромосомные aberrации и точечные мутации [256, 307], может утрачиваться координирующая роль регуляторных РНК. В этом проявляются генотоксические и дисметаболические эффекты этанола, в конечном итоге приводящие к нарушениям клеточного цикла, клеточной дифференцировки и т. п.

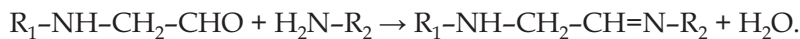
Особую значимость имеет воздействие ацетальдегида на биоструктуру митохондрий. Наиболее чувствительны к ацетальдегиду НАД-зависимые дегидрогеназы дыхательной цепи. Ингибирование дегидрогеназного участка электрон-транспортной цепи начинает проявляться при трех-шестикратном превыше-

нии фоновых концентраций ацетальдегида [252]. Вследствие этого наблюдается снижение скорости окисления субстратов при участии NAD-зависимых дегидрогеназ и поглощения кислорода митохондриями, увеличивается относительный избыток NADH. Возрастание концентрации NADH до уровня 50 мкмоль и более резко стимулирует образование  $H_2O_2$  при поступлении электронов к комплексу I митохондрий из-за ингибирования физиологического пути передачи электронов внутри данного комплекса. При этом дегидрогеназный комплекс I претерпевает специфические конформационные изменения [308] и становится возможной потеря коэнзима Q, выполняющего функции челночного механизма в электрон-транспортном ансамбле. Большое значение в формировании митохондриальной дисфункции имеет также частичное ингибирование ацетальдегидом адениннуклеотидтрансферазы и цитохромоксидазы, сопровождающееся угнетением транспорта АДФ и АТФ через внутреннюю митохондриальную мембрану и электронов по дыхательной цепи [253], что сопровождается возрастанием утечки частично восстановленных форм кислорода с терминального звена электрон-транспортной цепи.

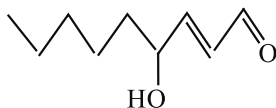
Относительно недавно установлена способность соединений Амадори (1-амино-1-дезоксид-2-кетоз) продуцировать супероксидный анион-радикал [309]. Вполне возможно, что продукты аминокарбонильного взаимодействия ацетальдегида и свободных  $NH_2$ -групп белков (соединения типа шиффовых оснований) в конечном итоге могут трансформироваться в более стабильные соединения типа Амадори [310]:



увеличивающие вал продукции супероксидного анион-радикала. Кроме того, появление новой карбонильной группы, определяющей возможность присоединения второй молекулы белка, увеличивает вероятность «сшивки белков»:



Неферментативное окисление липидов неизбежно сопровождается появлением таких вторичных продуктов свободнорадикальной дегградации полиеновых жирных кислот, как 4-гидроксиноненаль и малоновый диальдегид. Именно 4-гидроксиноненаль:



в настоящее время рассматривается как основной водорастворимый продукт перекисаации липидов, причем гораздо более токсичный, чем широко известный малоновый диальдегид [311]. Высокая реакционная способность 4-гидроксиноненала приводит к тому, что в свободном виде в биосредах организма он не обнаруживается, но с помощью антител к модифицированным 4-гидроксиноненалем белкам определяются продукты его взаимодействия с макромолекулами (рис. 23) [312].

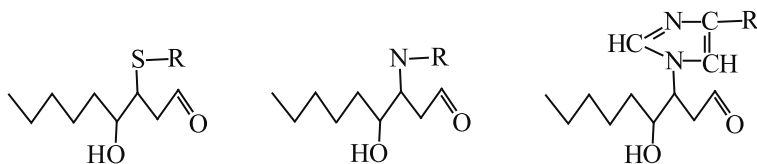


Рис. 23. Продукты присоединения 4-гидроксиноненала к белкам [313]

4-Гидроксиноненаль дозозависимым образом увеличивает уровень  $\text{Ca}^{2+}$  в клетках, снижает их жизнеспособность, стимулирует развитие некроза и апоптоза [314].

Малоновый диальдегид, быстро вступающий в ковалентные взаимодействия с различными биосубстратами, в свободном виде в тканях организма также не обнаруживается, но легко регистрируется в качестве аддуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой. Малоновый диальдегид способен модифицировать структуру нуклеиновых кислот [315, 316], увеличивать проницаемость кальциевых каналов [317, 318], ингибировать митохондриальные ферменты (в первую очередь – NAD-зависимые дегидрогеназы) [319, 320], стимулировать высвобождение цитохрома С из митохондрий [321, 322].

Существуют убедительные доказательства того, что центральную роль в развитии синапсосомальной дегенерации, в процессах аутофагии, апоптоза и некроза нейронов играют митохондрии, а именно – изменение их функционального состояния, формирование пор транзитной проницаемости [323–329].

Аутофагия – генетически программированный, эволюционно консервативный механизм поддержания баланса между процессами синтеза, деградации и последующего рециклирования цитоплазматического биоматериала; поддержания жизнеспособности клеток в условиях стресса посредством кatabолической деградации модифицированных макромолекул, поврежденных и/или излишних (чужеродных) органелл. Выделяют три варианта аутофагии, различающихся способами доставки цитоплазматического материала в состав лизосом:

- шаперон-опосредованная аутофагия, обеспечивающая лизосомальную деградацию протеинов, обладающих сигнальной последовательностью KFERQ (около 30% цитозольных белков обладают данной сигнальной последовательностью [330]), экспонируемой в случаях модификации структуры белка, с которой связывается шаперонный комплекс для последующей адресной рецептор-зависимой доставки полипептида в состав лизосом [331–334];
- микрофагия представляет собой прямое поглощение части объема цитоплазмы за счет инвагинации и последующей сепарации мембраны лизосом или поздних эндосом при фиксации на последних меченых сигнальным белком hsc70 модифицированных протеинах [335, 336];
- макрофагия – секвестрирование поврежденных внутриклеточных органелл (инфекционных агентов) и необычных долгоживущих протеинов в окруженных двумя фосфолипидными мембранами везикулах (аутофагосомах), которые в последующем за счет слияния с лизосомами формируют аутолизосомы (аутофаголизосомы), где содержимое претерпевает кatabолическую деградацию под влиянием лизосомальных гидролаз [337–340].

При алкогольной нагрузке ацетальдегид, углерод-центрированные радикалы этанола, активные формы кислорода и продукты перекисидации оказывают мощное повреждающее воздействие на различные клеточные биоструктуры. И поэтому эффективное функционирование механизмов аутофагии, обеспечивающих клиренс дефектных макромолекул и органелл, при алкогольной интоксикации критически важно. Однако этиловый алкоголь супрессирует механизмы аутофагии:

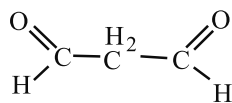
- вследствие нарушений эпигенетической регуляции экспрессии ассоциированных с аутофагией нескольких десятков генов [301, 335, 341];
- посредством индуцирования нарушений в сигнальной системе управляющей механизмами аутофагии [342–344] и в их энергообеспечении [345, 346];
- по причине алкоголь-зависимого полутора-двукратного возрастания уровня цитозольного L-лейцина, подавляющего макроаутофагию [347, 348];
- в результате алкоголь-ассоциированных нарушений внутриклеточного транспорта белков [349–351].

Все это при алкогольной интоксикации самым неблагоприятным образом сказывается на функционально состоянии гепатоцитов, миокардиоцитов и нейронов. Надо полагать, что деструктивные изменения более заметно будут проявляться в энергонапряженных структурах. В частности, в ЦНС при отравлениях этанолом патологические изменения в первую очередь могут формироваться в синапсосомах как синапсосомальная дегенерация [352]. Синаптические терминалы можно рассматривать как весьма автономные, энергонапряженные компартменты нейронов, располагающие сигнальными про- и анти-апоптотическими механизмами, способными индуцировать структурно-функциональные изменения в нейронных сетях [353]. Алкоголь-ассоциированное свободнорадикальное повреждение синапсосомальных макромолекул, митохондрий на фоне супрессии аутофагии и активации каспаз сопровождается локальными проявлениями апоптотического сценария в виде деградации синаптических терминалов, нейритов и даже гибелью нейронов [354, 355]. Хроническая алкогольная нагрузка вызывает демиелинизацию нервных волокон в ЦНС [356], двукратное уменьшение синаптического коэффициента (соотношение числа синаптических терминалов к числу нейронов в единице объема ткани головного мозга) [357], снижение плотности нейронов (до 22% в области фронтальной коры) [358], нарушение продукции нейротрофических факторов, нейрогормонов [359, 360] и сопровождается нарастающим когнитивным дефицитом [361]. Исходя из изложенного, именно такими представляются основные звенья патогенеза алкогольной энцефалопатии.

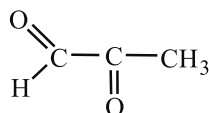
Важным аспектом рассматриваемой проблемы является и то, что при смертельных отравлениях этиловым алкоголем в разных отделах головного мозга, различающихся медиаторной организацией нейронных центров, а также в надпочечниках, отмечаются одновременное повышение энзиматической активности алкогольдегидрогеназы и снижение производительности ацетальдегиддегидрогеназы [362, 363]. Естественно, при такой динамике соотношения активности ферментов метаболизма этанола возможно критическое накопление ацетальдегида. Именно уровень ацетальдегида в крови, ликворе, моче, а не алкогольемия позволяет оптимизировать дифференциальную диагностику смертельных отравлений этиловым алкоголем [364].

Молекулярный кислород и связанное с ним неферментативное окисление липидов, как значимые факторы биологической эволюции, проявились с момента появления фотосинтезирующих аутотрофных организмов не позже 3,5 млрд лет назад [365]. Одновременно актуализировалась и другая проблема — углеводы, как продукт фотосинтеза, обладая карбонильным компонентом, способны к неферментативному взаимодействию со свободными аминогруппами аминокислот белков [366]. Для выживания аэробам потребовалось оптимизировать метаболические каскады и обзавестись эшелонированной системой подавления неферментативного окисления. В частности, глюкоза, как основной продукт фотосинтеза и субстрат, определяющий протекание множества метаболических процессов, отобрана в ходе эволюции, по-видимому, не случайно, а исходя из того, что, будучи в биосредах на 99,79% в циклической, относительно «инертной» форме, не способна гликировать протеины [367]. Однако все же при стечении неблагоприятных обстоятельств (избыточная генерация прооксидантов, несостоятельность антиоксидантных механизмов, увеличение уровня глюкозы) реакции неферментативного окисления и гликирования (так называемые параметаболические реакции [368]) могут существенно интенсифицироваться и стать лидирующими патогенетическими механизмами при формировании ряда патологических состояний [369]. При этом если в качестве одного из ключевых продуктов пероксидации можно рассматривать малоновый диальдегид, то наиболее важным продуктом гликирования белков является кетоальдегид метилглиоксаль [370]. Оба альдегида высоко реакционно-способны, с ростом уровня этих продуктов параметаболических реакций ассоциированы структурно-функциональные повреждения в живых системах [371, 372]. Белок-повреждающее действие малонового диальдегида и метилглиоксаля усиливается ацетальдегидом и прооксидантами, т. е. наиболее полно реализуется на фоне алкогольной интоксикации [373, 374]. Появление в биосредах столь химически агрессивных метаболитов настоятельно требует наличия биохимических механизмов их превращения в нейтральные соединения. И действительно, в клетках существует мощная глиоксалазная система, при функционировании которой метилглиоксаль конвертируется в нейтральный продукт — D-лактат [375, 376]. Эта система включает два фермента, содержащихся в цитозольном и митохондриальном компартментах клеток, — глиоксалазу I и глиоксалазу II — и требует для эффективного функционирования наличия восстановленного глутатиона. Вопрос о детоксикации малонового диальдегида долгое время оставался открытым.

Малоновый диальдегид, являющийся изомером метилглиоксаля, отличается от последнего тем, что имеет две альдегидные группы, а не альдегидную и кетонную:



малоновый  
диальдегид



метилглиоксаль

Вопрос о детоксикации малонового диальдегида разрешился при обнаружении в клетках фермента-изомеразы, способного превращать малоновый диаль-





- информативным интегральным показателем выраженности оксидативного стресса и тяжести острого алкогольного отравления может быть уровень D-лактата в биосредах организма.

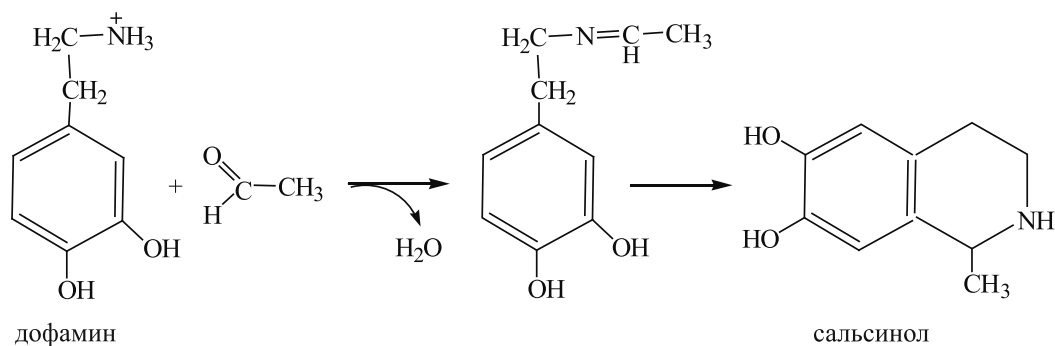
Вопросы о механизмах реализации фармакологических эффектов малых доз этанола (эйфоризирующего действия) и формирования алкогольной зависимости до сих пор остаются открытыми. На нейрохимическом уровне этанол влияет на функции ГАМК-ергической [382–385], глутаматергической [386, 387], адренергической [388, 389], серотонинергической [390, 391], дофаминергической [392, 393], опиоидергической [394] и эндоканнабиноидной [395, 396] систем мозга.

ГАМК-ергическая медиаторная система, по мнению большинства авторов, являясь одной из основных точек приложения этанола при возникновении его психотропных эффектов, играет значительную роль в формировании алкоголизма. Рецептор ГАМК представляет собой белок, имеющий участки связывания ГАМК, барбитуратов и бензодиазепинов, которые способны воспроизводить многие эффекты этанола. Один из подтипов рецепторов — ГАМК А-рецептор, связанный с хлор-ионным каналом, под влиянием этанола обеспечивает значительное повышение скорости вхождения анионов хлора во внутрь клетки, что проявляется эффектом торможения. По-видимому, действие этанола в низких концентрациях может быть обусловлено потенцированием эффектов, связанных с ГАМК-ассоциированным вхождением ионов хлора в цитозоль. Не исключено, что подобным же образом этиловый алкоголь может влиять на передачу нервного импульса в нейронах, которые в качестве тормозного медиатора используют аминокислоту глицин для активации хлор-ионных каналов. При этом в отличие от острых эффектов, длительное систематическое воздействие алкоголя приводит к подавлению ГАМК-ергической передачи, что, вероятно, в определенной степени и определяет развитие алкогольной зависимости [397, 398].

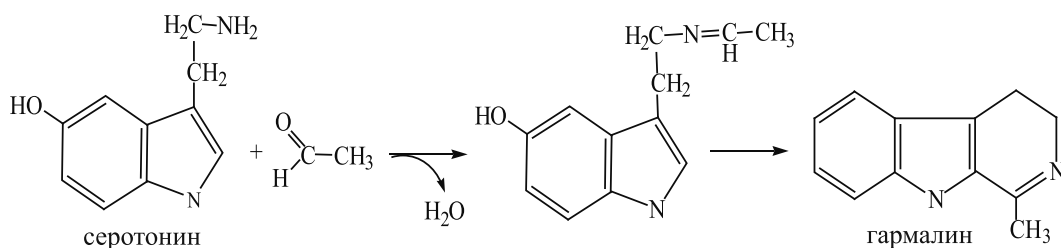
Эффекты этанола, считается, в той либо иной степени опосредуются и другой нейромедиаторной системой, в которой в качестве мессенджера используется глутаминовая кислота. Глутамат — основной возбуждающий медиатор в нервной системе млекопитающих, осуществляющий свое возбуждающее действие через каинатные, квисквалатные и NMDA-рецепторы. Установлено, что алкоголь модулирует глутаматергическую передачу, в основном, через NMDA-рецепторы, связанные с кальциевыми каналами, вызывая зависимое от дозы уменьшение поступления катионов кальция в нейроны. Вследствие последнего снижается уровень вторичных мессенджеров в нейронах и нарушаются процессы последующей длительной постсинаптической потенциации [399, 400].

Острая алкогольная интоксикация проявляется и посредством модуляции активности всех моноаминергических (адрен-, серотонин-, дофаминергических) нейромедиаторных систем. В частности, «эйфоризирующие» дозы этанола снижают чувствительность  $\alpha_2$ -адренергических рецепторов, являющихся негативными регуляторами секреции катехоламинов. Как следствие, из депо пресинаптических образований в щели адренергических синапсов норадреналин высвобождается в существенно повышенных количествах, особенно в тех участках головного мозга (гипоталамус, средний мозг), которые регулируют эмоциональное состояние и мотивационные процессы. Кроме того, этиловый алкоголь угнетает механизмы обратного захвата катехоламинов пресинаптическими и их ферментативную инактивацию.

Таким образом, под влиянием этанола наблюдается стимуляция адрэнергических структур мозга, что сопровождается проявлениями эйфории и возбуждения. Одновременно в результате стрессовой реакции нервной системы на этанол наблюдается дополнительная секреция катехоламинов из надпочечников и увеличение их содержания в крови, что также способствует увеличению тонуса адрэнергических медиаторных механизмов. В отличие от этого, при хронической алкогольной интоксикации этиловый алкоголь подавляет активность дофамин- $\beta$ -гидроксилазы, т. е. тормозит реакцию ферментативной трансформации дофамина в норадреналин, поэтому уровень последнего в ткани мозга на фоне длительной алкоголизации снижается. Кроме того, алкоголь может индуцировать активность тирозингидроксилазы, увеличивая тем самым скорость образования дофамина в каскаде: тирозин  $\rightarrow$  ДОФА  $\rightarrow$  дофамин и способен изменять (подавлять) активность ферментов шунта  $\gamma$ -аминомасляной кислоты (шунт Робертса). Считается, что повышенный уровень дофамина, а также снижение содержания норадреналина и ГАМК в ткани головного мозга представляют собой важные составляющие патогенетических механизмов возникновения синдрома отмены [252, 401–404].



К настоящему времени показано, что ацетальдегид обладает свойством энзим-опосредованным путем конденсироваться с некоторыми катехоламинами, в частности, с дофамином, в результате чего синтезируются тетрагидроизохинолоны [405]. Один из них — сальсолинол — способен в значительной степени супрессировать экспрессию проопиомеланокортина (формирующее дефицит эндогенных опиоидов при алкоголизме) [406, 407], вызывать галлюцинации и провоцировать абстиненцию [408]. Аминокарбонильное взаимодействие ацетальдегида с серотонином сопровождается образованием гармалина, также являющегося сильным галлюциногеном [409, 410]:



Предшественники тетрагидроизохинолина способны превращаться и в морфин [411], который обнаружен в мозге и в спинномозговой жидкости

млекопитающих [412, 413]. Получены доказательства стереоспецифичности связывания тетрагидроизохинолонов с опиатными рецепторами ткани мозга, что доказывает опосредованность некоторых эффектов этанола активацией опиоидных механизмов и объясняет понижение уровня опиоидных пептидов в мозге при хроническом употреблении этанола [184]. Считается, что возникающий опиоидный дефицит может актуализировать влечение к алкоголю, а его последующие приемы поддерживают и усугубляют этот дефицит.

Для хронической алкогольной интоксикации характерны:

- повышенный уровень провоспалительных цитокинов в биосредах [494–496], что особенно типично для ткани ЦНС [497];
- супрессия продукции противовоспалительных цитокинов/факторов [498–501];
- оксидативно/нитрозативный стресс, как следствие гиперпродукции прооксидантов и возрастания активности NOS [502–504];
- несостоятельность антиоксидантной системы вследствие снижения антирадикальной емкости неферментативной составляющей антирадикальной защиты и снижения активности антиоксидантных ферментов [505, 506];
- митохондриальная дисфункция [507–510];
- прогрессирующая нейродегенерация [511, 512].

И все эти черты хронической алкоголизации не что иное, как проявления персистирующей системной воспалительной реакции. Провоспалительный фон при длительном злоупотреблении алкогольсодержащими напитками может формироваться как следствие перманентной стимуляции активности провоспалительного ядерного фактора транскрипции NF- $\kappa$ B алкоголь-ассоциированными прооксидантами [513] и этанол-индуцированной гипоксией [514]. Однако основным триггером системной воспалительной реакции все же, по видимому, выступает липополисахарид [515, 516].

Хронический стресс, сопровождающийся увеличением уровня катехоламинов в биосредах (в частности, норадреналина в стенке кишечной трубки [517, 518]) [519, 520], модулирует (подавляет) экспрессию щелочной фосфатазы клетками эпителиальной выстилки кишечника [125, 129–131]. Данный фермент катализирует гидролитическую деструкцию (детоксикацию) липополисахарида, и снижение ферментативной активности щелочной фосфатазы сопровождается резким увеличением уровня эндотоксина в кишечном содержимом [123, 124, 126]. Кроме того, под влиянием катехоламинов подавляется продукция секреторного иммуноглобулина А в кишечнике (sIgA обеспечивает элиминацию нерезидентных микроорганизмов [521]) [522, 523] и изменяется фенотип кишечной условно-патогенной микрофлоры, приобретающей способность экспрессировать различные факторы вирулентности [524–528], в том числе те, которые нарушают барьерную функцию эпителиальной выстилки желудочно-кишечного тракта, способствуя абсорбции из просвета кишечника эндотоксина (LPS) грамотрицательных бактерий [529–531].

Липополисахарид рецептор-опосредованным путем (при участии TLR4-сигнальных механизмов), активируя ядерный фактор транскрипции NF- $\kappa$ B (регулирует экспрессию генов стрессорного провоспалительного ответа), формирует провоспалительный фон не только на периферии, но и в ткани ЦНС, побуждая клетки глиального дифферона продуцировать провоспалительные медиаторы (TNF- $\alpha$ , IL-6). Особенностью воздействия LPS на ткань центральной

нервной системы является чрезвычайно длительное (месяцы) повышение уровня провоспалительных цитокинов в головном мозге даже после однократного поступления эндотоксина в кровь, сопровождающееся нейродегенеративной динамикой [532–534]. Структурно-функциональные изменения со стороны ЦНС при хронической алкоголизации (когнитивная дисфункция, нейрональная дегенерация, уменьшение объема нервной ткани [512, 535, 536]), в значительной степени ассоциированы именно с эндотоксемией [497, 512, 537].

В плане рассматриваемой проблематики весьма важным представляется то, что провоспалительные цитокины (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ) способны резко увеличивать (индуцировать) активность индоламин-2,3-диоксигеназы [538–540]. Индоламин-2,3-диоксигеназа (К. Ф. – 1.13.11.42) – ключевой фермент окислительной деградации триптофана [541], экспрессируемый в ткани ЦНС эндотелиоцитами, периваскулярными макрофагами, астроцитами и микроглией [542]. Незаменимая аминокислота триптофан – лимитирующий фактор синтеза «гормона счастья» серотонина. Супрессия серотонинергической медиации в подкорковых структурах головного мозга (в том числе при падении доступности триптофана) негативно модулирует психоэмоциональный статус человека [543, 544], формируя тревожно-депрессивное состояние [545, 546].

В качестве основного продукта (90–95%) метаболической деградации триптофана предстает кинуренин, как предполагалось еще в первой половине 70-х годов прошлого столетия – «гормон несчастья» [547, 548]. И хотя данное предположение не подтвердилось, кинуренин сам по себе не обладает нейрофармакологической активностью [549], его производные: 3-гидрокси-кинуренин (3-НК), хинолиновая кислота (QA), кинурениновая кислота (КА) таковую проявляют. Все они представляют собой лиганды NMDA-рецепторов – 3-НК и QA являются агонистами глутаматных рецепторов, а КА – антагонистом [542, 550–552]. Метаболиты кинуренина, кроме того, эффективно ингибируют активность митохондриальной альдегиддегидрогеназы, резко усиливая токсическое действие ацетальдегида [553]. В частности, увеличение концентрации высокореакционноспособного уксусного альдегида в биосредах организма интенсифицирует его взаимодействие с экзоциклическими аминогруппами нуклеиновых кислот (с образованием смешанных ацеталей) и углеродом в позиции 2 или 3 индольной части триптофана (с образованием бис[индолил]этана) [554]. Естественно, это сопровождается резким снижением уровня серотонина в ткани головного мозга, дисфункцией глутамат- и ГАМК-ергической систем нейромедиации и, как следствие, потерей контроля над поведением, повышенной агрессивностью [555].

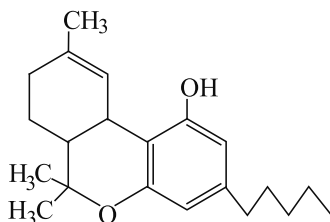
Таким образом, при дисбиотических состояниях наблюдается LPS-ассоциированная стимуляция экспрессии провоспалительных цитокинов/факторов, создающих условия для ускоренной окислительной деградации триптофана и синтеза нейроактивных производных кинуренина, модулирующих функциональное состояние ряда нейромедиаторных систем, имеющих непосредственное отношение к психоэмоциональному статусу и формированию потребности в экзогенных психоактивных субстанциях [556–558]. Возникает новое и очень устойчивое психосоматическое состояние – даже после детоксикации у пациентов с хроническим алкоголизмом сохраняется провоспалительный фон и низкий уровень триптофана в крови [559]. Именно поэтому блокирование эффектов LPS, прямое ингибирование активности индоламин-2,3-диоксигеназы проявляются нормализацией соотношения кинуренин/трип-

тофан в ткани мозга и купированием (предупреждением) депрессивноподобных состояний [546].

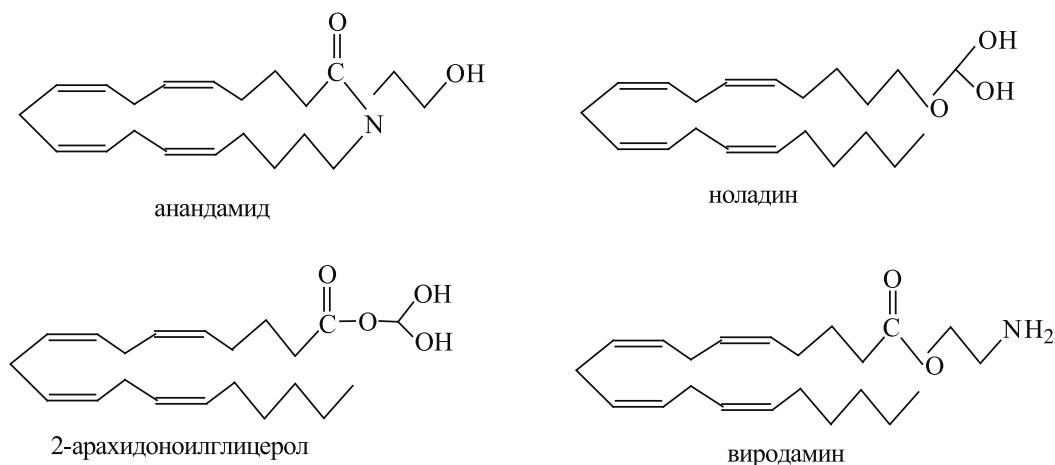
И все же, несмотря на многообразие методических приемов, использованных для изучения нейрофармакологических эффектов «эйфоризирующих» доз этилового алкоголя, из обилия полученных экспериментальных фактов и клинических наблюдений не складывается единой картины, и возникает масса вопросов. Главный среди которых — каким образом малые дозы этанола на фоне согласованного действия алкоголь-дегидрогеназы и ацетальдегиддегидрогеназы, когда ацетальдегид в заметных количествах и не успевает, и не может накапливаться, быстро модулируют психоэмоциональное состояние человека. При этом прямое рецепторное действие этанола, по-видимому, не играет существенной роли. Это допущение проистекает хотя бы из того, что для этанола не обнаружено специфических рецепторов [414], как, например, для классических наркотических субстанций, и эффективные дозы алкоголя на несколько порядков выше, чем для опиатов.

В плане рассматриваемого вопроса, с нашей точки зрения, особый интерес представляет проблема эндоканнабиноидной медиации. Препараты конопли (*Cannabis sativa*), обладающие анксиолитическими, эйфоризирующими, стресс-протективными эффектами [415], издавна известны множеству культур и применялись в течение многих веков [416], в том числе и для медицинских целей: для лечения глаукомы, морской болезни, рвоты, купирования болевого синдрома и т. д. [417, 418].

В 1964 году сотрудниками Еврейского университета в Иерусалиме установлено, что соединением, ответственным почти за все фармакологические эффекты марихуаны (препарат конопли), является  $\Delta^9$ -тетрагидроканнабинол [419]:



Должного внимания сообщение, по-видимому, в научном сообществе не привлекло — только почти четверть века спустя, т. е. в 1988 году, посредством радиолигандных методов в мозге были идентифицированы молекулярные структуры, специфически связывавшие каннабиноиды, впоследствии получившие название каннабиноидных рецепторов СВ-1 [420]. И это послужило мощным стимулом для дальнейших исследований. В начале 1990-х годов определена тканевая локализация, идентифицированы структурно-функциональные характеристики и проведено клонирование каннабиноидных рецепторов СВ1-R [421, 422]. Вскоре после этого были обнаружены и эндогенные лиганды каннабиноидных рецепторов: N-арахидоноилэтаноламин, названный анандамидом (от санскрит. *Anand* — блаженство, счастье) [423], 2-арахидоноилглицерол (2-АГ) [424, 425], а несколько позже ноладин и виродамин (от санскрит. *Virodha* — противоположность) [426, 427]:



Стало очевидным, что помимо традиционных систем нейротрансмиссии, существует и эндоканнабиноидная нейромедиация.

Эндоканнабиноидная система представлена каннабиноидными рецепторами (CB<sub>1</sub> и CB<sub>2</sub>), их эндогенными лигандами, ферментами синтеза и деградации эндоканнабиноидов [428–433]. Оба типа рецепторов экспрессируются как в ЦНС, так и в периферических тканях. Каннабиноидные рецепторы CB<sub>1</sub> в ЦНС представлены весьма обильно (примерно, в равной степени с другими G-белок-связанными нейромодуляторными рецепторами) [422, 428, 434–436]. С высокой плотностью CB<sub>1</sub>- и CB<sub>2</sub>-рецепторы экспрессируются в коре головного мозга, а также в гиппокампе, базальных ганглиях и в мозжечке. Трансдукция сигнала с каннабиноидных рецепторов внутрь клетки опосредуется G-белковым механизмом (через Gi/Go-белки), негативно влияющим на активность аденилатциклазы, стимулирующими проводимость N- и P/Q-типов Ca<sup>2+</sup>-каналов и активность митоген-активируемых протеинкиназ [437, 438], что сопровождается торможением выделения нейротрансмиттеров через пресинаптическую мембрану (особенно ГАМК и глутамата) [439]. Длительность модулирующего воздействия эндоканнабиноидов регулируется захватом и активным транспортом данных медиаторов в пресинаптическую мембрану и их внутриклеточным гидролизом при участии ацилгидролазы жирных кислот и моноацил-глицероллипазы [440]. В этом процессе эффективно участвует и сериновая гидролаза ABHD6 [441].

Эндоканнабиноиды — гидрофобные субстанции, которые заранее не накапливаются в синаптических пузырьках, а при необходимости быстро синтезируются из компонентов клеточной мембраны постсинаптических терминалей. Будучи липофильными соединениями, эндогенные каннабиноиды не могут диффундировать на сколько-нибудь значительное расстояние, оказывая локальное действие. Эти медиаторы уникальны — обеспечивают ретроградную передачу сигналов от нейронов, получающих импульсы посредством синаптической передачи, на нейроны, посылающие сигналы, формируя феномен депрессии торможения, вызванный деполяризацией (depolarization-induced suppression of inhibition) [442].

Система эндоканнабиноидной медиации оказалась гораздо более сложной, нежели представлялось ранее:

- помимо локализации на цитоплазматической мембране клеток, каннабиноидные рецепторы (CB<sub>2</sub>) расположены и функционируют в цитозоле нейронов, контролируя их состояние путем (инозитол-3-фосфат)-опосредованного увеличения проницаемости Ca<sup>2+</sup>-активируемых хлоридных каналов [443];
- имеется ряд косвенных свидетельств о наличии нескольких, пока неидентифицированных, новых типов каннабиноидных рецепторов, отличающихся от CB<sub>1</sub> и CB<sub>2</sub> [444–447];
- каннабиноидные рецепторы CB<sub>1</sub> формируют гетеродимерные комплексы с G-белок-ассоциированными ко-экспрессирующимися на цитоплазматической мембране нейронов рецепторами дофамина [448], ГАМК [449], опиоидов [450] и орексина-1 [451], модулируя их функциональную активность [452];
- липополисахарид (эндотоксин грамотрицательных бактерий) TLR-4 опосредованным путем оказывает модулирующее влияние на экспрессию каннабиноидного рецептора CB<sub>1</sub> (контролирующего проницаемость кишечного барьера), энзимов деградации анандамида и арахидоноил-глицерола [435], синтез эндоканнабиноидов (анандамида) *in vitro* и *in vivo* [453–455].

Наверное, соответственно морфофункциональной многогранности эндоканнабиноидной медиации, многообразен и спектр феноменов воздействия этилового алкоголя на данную систему:

- под влиянием острого воздействия этанола (на фоне отсутствия динамики активности энзимов синтеза и деградации эндоканнабиноидов) уже через десятки минут в ткани головного мозга, в жировой ткани и в плазме крови уменьшается содержание эндогенных каннабиноидов [456–458], модулируются метаболические каскады арахидоновой кислоты [459], возможно, за счет уменьшения доступности данного полиена [460, 461];
- эндогенный каннабиноид анандамид эффективно трансформируется алкогольдегидрогеназой в N-арахидоноилглицин, относящийся к классу липидных сигнальных молекул и обладающий широким спектром физиологической активности (индуктор миграции микроглиальных элементов, стимулятор активности эндотелиальной NOS и т. д.) [462–464];
- хроническое воздействие этанола сопровождается активацией фосфолипазы A<sub>2</sub>, высвобождающей арахидоновую кислоту из состава фосфолипидов [465, 466], что, по-видимому, и является причиной снижения в тканях уровня содержащих арахидоновую кислоту фосфатидилинозитолов [467];
- для хронической алкогольной нагрузки характерно ингибирование в некоторых регионах головного мозга транспорта анандамида внутрь нейронов [468] при снижении числа каннабиноидных рецепторов CB<sub>1</sub> (в результате этанол-ассоциированного подавления экспрессии мРНК рецептора CB<sub>1</sub>) [469] и их функциональной десенситизации, ведущей к дисрегуляции синтеза моноаминов (в том числе дофамина) в головном мозге [470];
- на фоне воздействия этанола стимулируется выделение дофамина в лимбическом компоненте базальных ганглиев (формирующих мотивацию и эмоциональное состояние) [471, 472], что ассоциировано с каннабиноидной медиацией (не наблюдается при нокауте гена CB<sub>1</sub>-рецептора [473]), но реализуется это влияние этилового алкоголя на мезолимбиче-



скую допаминергическую медиацию опосредованно [471], поскольку допаминергические нейроны базальных ганглиев не экспрессируют СВ<sub>1</sub>-рецепторы [436, 474];

- 9-тетрагидроканнабинол (основная психотропная субстанция конопли, лиганд каннабиноидных рецепторов) и этиловый алкоголь при комбинированном применении проявляют аддитивное воздействие на функциональное состояние ЦНС [475, 476];
- лиганды СВ<sub>1</sub>-рецептора (антагонисты и агонисты) способны резко модулировать (уменьшать и увеличивать, соответственно) потребление алкоголя этанолзависимыми модельными биологическими объектами [477–481];
- под влиянием фармакологических доз этанола (как и при хроническом воздействии каннабиноидов [482]) стимулируется активность некоторых изоформ аденилатциклазы и, соответственно, возрастает уровень цитозольного сАМФ в нейронах [483, 484], что сопровождается изменением экспрессии сАМФ-зависимых генов [485] и может представлять собой один из путей формирования толерантности и к каннабиноидам, и к этанолу; низкий фоновый уровень активности тромбоцитарной аденилатциклазы может быть использован в качестве генетического маркера предрасположенности к формированию алкогольной зависимости [486–488].

Перечень откликов системы эндоканнабиноидной медиации на воздействие этилового алкоголя можно продолжать. Вот только ясности в понимание механизмов формирования фармакологических эффектов этанола это вряд ли принесет. Перечисленные экспериментальные факты воспринимаются как смесь мозаичных фрагментов, не складывающихся в единую картину в силу отсутствия системообразующего фактора. Действительно, как объяснить то, что этиловый алкоголь, не будучи агонистом каннабиноидных рецепторов, оказывает воздействие на ЦНС в значительной степени аналогичное эффектам каннабиноидов, а его эффекты модулируются лигандами каннабиноидных рецепторов; почему алкогольдегидрогеназа эффективно метаболизирует некоторые эндоканнабиноиды?

Чтобы получить в какой-то степени удовлетворительные ответы на поставленные вопросы, следует допустить предположение о том, что этанол может принимать участие в образовании агониста (агонистов) каннабиноидных рецепторов, например, трансформируясь в арахидоноилэтанол. Действительно, в ткани мозга (в синапсомембранных мембранах) млекопитающих и человека локализован фермент синтеза этиловых эфиров жирных кислот (FAEE-synthase), катализирующий образование этиловых эфиров полиеновых жирных кислот [489, 490]. Следует заметить, что некоторые агонисты каннабиноидных рецепторов обладают противоопухолевой активностью [491, 492]. Подобные свойства проявляют и этиловые эфиры омега-гидроксипропилированных жирных кислот [493], что косвенно подтверждает возможность наличия качеств лигандов каннабиноидных рецепторов у некоторых этиловых эфиров жирных кислот. Поэтому мы полагаем, что именно неидентифицированные производные этанола, выступая в качестве лигандов каннабиноидных рецепторов, ответственны за эйфоризирующее действие малых доз этилового алкоголя.

Заканчивая рассмотрение вопросов темы, исходя из вышеизложенного, патогенез формирования потребности в экзогенных модуляторах психоэмоционального состояния можно представить как цепь событий, связанных причинно-следственными отношениями:

- стресс (дисгомеостатирующее воздействие факторов химической, физической, биологической и социальной природы критической интенсивности и длительности действия);
- длительное увеличение тонуса гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, сопровождающееся истощением резервов стресс-лимитирующих механизмов и увеличением уровня катехоламинов в биосредах организма;
- стресс-ассоциированное изменение экспрессии факторов колонизационной резистентности, фенотипа кишечной микробиоты и барьерной функции слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта;
- формирование дисбиотического состояния и приобретение aberrантным кишечным микробиомом характера самоподдерживающегося перманентно действующего стресс-индуцирующего фактора;
- изменение спектра физиологически активных субстанций, продуцируемых кишечной микробиотой, и возникновение хронической эндотоксинемии, поддерживающей персистирующую системную воспалительную реакцию низкой интенсивности;
- LPS (липополисахарид)-ассоциированное изменение функционального состояния серотонин-, глутамат-, ГАМК-ергических и эндоканнабиноидной нейромедиаторных систем;
- формирование, соответственно выраженности эндотоксинемии и дисфункции нейромедиаторных систем, тревожно-депрессивных, дисфорических проявлений, т. е. потребности в экзогенных модуляторах психоэмоционального статуса;
- алкоголь-зависимая актуализация всех звеньев патогенетической цепи формирования/поддержания потребности в экзогенных модуляторах психоэмоционального статуса.

Соответственно, терапия/профилактика алкогольной зависимости и алкоголь-ассоциированной соматической патологии должна реализовываться по следующим базисным направлениям:

- восстановление микроэкологического равновесия;
- купирование эндотоксинемии и блокирование эфффектов липополисахарида (антиэндотоксиновая терапия);
- антиоксидантная терапия;
- нормализация эпигенетической регуляции экспрессии генов;
- оптимизация процессов аутофагии;
- нормализация метаболических и нейромедиаторных процессов.

Следует подчеркнуть, что ни одна из перечисленных задач терапии не имеет быстрого, простого решения и требует длительных усилий как со стороны пациента, так и со стороны лечащего врача.

В заключение остается лишь добавить: берегите симбионтов, поддерживайте микроэкологическое благополучие.

## Литература

1. Лисицын Ю. П., Сточик А. М. Алкоголизм. Краткая медицинская энциклопедия. — М.: Сов. энциклопедия, 1989. — Т. 1. — С. 46–51.

2. Head J., Stansfeld S. A., Siegrist J. The psychosocial work environment and alcohol dependence: a prospective study // *Occup. Environ. Med.* – 2004. – Vol. 61 (3). – С. 219–224.

3. Гундаров И. А. Парадоксы динамики смертности от алкогольных отравлений в Российской Федерации // *Наркология.* – 2004. – № 7. – С. 40–44.

4. Жимлиханов Н. Х., Федоров А. Г. Частота и причины употребления психоактивных веществ подростками // *Здоровье населения и среда обитания.* – 2005. – № 1. – С. 5–8.

5. Штомпка П. Социальное изменение как травма // *Социол. исслед.* – 2001. – № 1. – С. 6–16.

6. Халтурина Д. А., Коротаев А. В. Алкоголь и наркотики как фактор демографического кризиса // *Социол. исслед.* – 2006. – № 7. – С. 104–112.

7. Дудкина О. В. Алкоголизация населения в России: социально-демографические последствия: Дис. ... канд. социол. наук. – Новочеркасск, 2007. – 165 с.

8. Schuckit M. A., Smith T. L. Onset and course of alcoholism over 25 years in middle class men // *Drug Alcohol Depend.* – 2001. – Vol. 113 (1). – С. 21–28.

9. Алешкин В. А., Афанасьев С. С., Поспелова В. В. и др. Становление пробиотикотерапии в России // *Вестник РАМН.* – 2005. – № 12. – С. 3–13.

10. Шендеров Б. А. Медицинская микробная экология: некоторые итоги и перспективы исследований // *Вестник РАМН.* – 2005. – № 12. – С. 13–17.

11. Амерханова А. М., Алешкин В. А., Грачева Н. М. и др. Принципы конструирования препаратов-синбиотиков и оценка их клинической эффективности // *Вестник РАМН.* – 2006. – № 6. – С. 38–44.

12. Grauer F. Role of intestinal flora in health and disease // *Nutr. Hosp.* – 2007. – Vol. 22 (2). – P. 292–300.

13. Othman M., Aguero R., Lin H. C. Alteration in intestinal microflora and human disease // *Curr. Opin. Gastroenterol.* – 2008. – Vol. 24 (1). – P. 11–16.

14. Wade W. G. Non-culturable bacteria in complex commensal populations // *Adv. Appl. Microbiol.* – 2004. – Vol. 54. – P. 93–106.

15. Kuwachara T., Ogura Y., Oshima K. et al. The life style of the segmented filamentous bacterium: a non-culturable gut-associated immunostimulating microbe inferred by whole-genome sequencing // *DNA Research.* – 2011. – Vol. 18 (4). – P. 291–303.

16. Qin J., Li R., Raes J. et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing // *Nature.* – 2010. – Vol. 464 (7285). – P. 59–65.

17. Solzberg S. L., White O., Eisen J. A. Microbial genes in the human genome: lateral transfer or gene loss? // *Science.* – 2001. – Vol. 292 (5523). – P. 1903–1906.

18. Keeling P. J., Palmer J. D. Horizontal gene transfer in eukaryotic evolution // *Nat. Rev. Genet.* – 2008. – Vol. 9. – P. 605–618.

19. Imberty A., Mitchell E. P., Wimerova M. Structural basis of high-affinity glycan recognition by bacterial and fungal lectins // *Curr. Opin. Struct. Biol.* – 2005. – Vol. 15 (5). – P. 525–534.

20. Bishop J. R., Gagneux P. Evolution of carbohydrate antigens – microbial forces shaping host glycomes? // *Glycobiol.* – 2007. – Vol. 17 (5). – P. 23R–34R.

21. Dam T. K., Brewer C. F. Lectins as pattern recognition molecules: the effects of epitope density in innate immunity // *Glycobiol.* – 2010. – Vol. 20 (3). – P. 270–279.

22. Бондаренко В. М., Лыкова Е. А., Изачик Ю. А. и др. Коррекция пробиотиками микрoэкологических и иммунных нарушений при гастродуоденальной патологии у детей // *Журн. микробиол. эпидемиол.* – 1996. – № 2. – С. 88–91.

23. Будагов Р. С., Ульянова Л. П., Поспелова В. В. и др. Биопрепарат на основе *L. acidophilus* новое средство раннего лечения комбинированных радиационно-термических поражений // Радиационная биология. радиоэкология. — 1997. — Vol. 37 (5). — С. 743–749.
24. Поспелова В. В., Будагов Р. С., Ханина Г. И. и др. Эффективность применения препарата на основе *Lactobacillus acidophilus* для защиты от миелотоксического действия ионизирующей радиации и противоопухолевых цитостатиков // Эксперим. клин. фармакол. — 2002. — Vol. 65 (2). — С. 59–63.
25. Шендеров Б. А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. — М.: Грантъ, 1998. — Т. 1-2. — С. 31–48.
26. Sekirov I., Russel S. L., Antunes L. C., Finlay B. B. Gut microbiota in health and disease // *Physiol. Rev.* — 2010. — Vol. 90 (3). — P. 859–904.
27. Cryan J. F., O'Mahony S. M. The microbiome-gut-brain axis: from bowel to behavior // *Neurogastroenterol. Motil.* — 2011. — Vol. 23 (3). — P. 187–192.
28. Grenham S., Clarke G., Cryan J., Dinan T. G. Brain-gut-microbe communication in health and disease // *Front. Physiol.* — 2011. — Vol. 2. — P. 94. — doi: 10.3389/fphys. — 2011.00094.
29. Щербаков П. Л., Нижевич А. А., Логиновская В. В. и др. Микроэкология кишечника у детей и ее нарушения // Фарматека. — 2007. — Vol. 14. — С. 28–34.
30. Донецкая Э. Г.-А. Клиническая микробиология: Руководство для специалистов клинической лабораторной диагностики. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. — 480 с.
31. Добрынин В. М., Зинкин В. Н., Вобликов И. В. и др. Влияние высокоинтенсивного импульсного шума на состав микрофлоры толстого кишечника крыс // Научные тр. НИИЦ (МБЗ) Гос. НИИИ Военной медицины. — Т. 2. — СПб., 2000. — С. 79–85.
32. Добрынин В. М., Чепур С. В., Вобликов И. В., Родионов Г. Г. Структурно-функциональные изменения энтероцитов у крыс, подвергнутых длительному воздействию низкочастотных акустических колебаний // Научные тр. НИИЦ (МБЗ) Гос. НИИИ Военной медицины. — Т. 3. — СПб., 2002. — С. 102–106.
33. Олескин А. В., Ботвинко И. В., Кировская Т. А. Микробная эндокринология и биополитика // Вестн. Моск. ун-та. Сер. Биология. — 1998. — №. 4. — С. 3–10.
34. Олескин А. В., Шишов В. А., Кировская Т. А., Кудрин В. С. Нейромедиаторные амины, их предшественники и продукты окисления в культуре *Escherichia coli* K-12 // Приклад. биохим. микробиол. — 2009. — Vol. 45 (5). — С. 1–5.
35. Bercik P., Denou E., Collins J. et al. The intestinal microbiota affect central levels of brain-derived neurotrophic factor and behavior in mice // *Gastroenterol.* — 2011. — Vol. 141 (2). — P. 599–609.
36. Tkachenko E. I., Uspenskiy Y. P., Fominykh Y. A. Functional nutrition and psycho-intellectual possibilities of man: things in common // *Formatex.* — 2010. — Vol. 2 (2). — P. 1155–1159.
37. Collins S. M., Bercik P. The relationship between intestinal microbiota and central nervous system in normal gastrointestinal function and disease // *Gastroenterol.* — 2009. — Vol. 136 (6). — P. 2003–2014.
38. Lyte M. The microbial organ in the gut as a driver of homeostasis and disease // *Med. Hypotheses.* — 2010. — Vol. 74 (4). — P. 634–638.
39. Domagk G. Ein Beitrag zur Chemotherapie der bakteriellen Infektionen *Deutsche medizinische // Wochenschrift.* — 1935. — Vol. 61. — P. 250–253.

40. Fleming A. Penicillin: its discovery, development, and uses in the field of medicine and surgery // J. Royal Inst. Publ. Health Hyg. – 1945. – Vol. 8. – P. 36–49, 63–71, 93–105.
41. Ваксман З. А. Антагонизм микробов и антибиотические вещества. – М.: Иностран. лит-ра, 1947. – 390 с.
42. Kitasato I., Yokota M., Inouye S. et al. Comparative ototoxicity of ribostamycin, dactimicin, dibecacin, kanamycin, amikacin, tobramycin, gentamicin, sisomicin and netilmicin in the inner ear of guinea pigs // Chemother. – 1990. – Vol. 36 (2). – P. 155–168.
43. Dobie R. A., Black F. O., Pezsnecker S. C., Stallings V. L. Hearing loss in patients with vestibulotoxic reactions to gentamicin therapy // Arch. Otolaryngol. Head Neck Surgery. – 2006. – Vol. 132 (3). – P. 253–257.
44. Selimoglu E. Aminoglycoside-induced ototoxicity // Curr. Pharm. Des. – 2007. – Vol. 13 (1). – P. 119–126.
45. Uzun C., Koten M., Adali M. K. et al. Reversible ototoxic effect of azithromycin and clarithromycin on transiently evoked otoacoustic emission in guinea pigs // J. Laryngol. Otol. – 2001. – Vol. 115 (6). – P. 622–628.
46. Selye H. A syndrome produced by diverse nocuous agents. – 1936. – Vol. 138 (3479). – P. 32.
47. Selye H. Perspectives in stress research // Perspect. Biol. Med. – 1959. – Vol. 2 (4). – P. 403–406.
48. Selye H. The general adaptation syndrome and the diseases of adaptation // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 1945. – Vol. 6 (2). – P. 117–230.
49. Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме. – М.: Медгиз, 1960. – 254 с.
50. Пшеничникова М. Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии // Патологич. физиол. эксперимент. терапия. – 2000. – Vol. 2. – С. 24–31.
51. Воробьев А. А., Абрамов Н. А., Бондаренко В. М., Шендеров Б. А. Дисбактериозы – актуальная проблема медицины // Вестник РАМН. – 1997. – Vol. 2. – С. 4–7.
52. Бондаренко В. М., Боев Б. В., Лыкова Е. А., Воробьев А. А. Дисбактериозы желудочно-кишечного тракта // Росс. журнал гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. – 1998. – Vol. 1. – С. 66–77.
53. Harris R. B., Palmondon J., Leshin S. et al. Chronic disruption of body weight but not of stress peptides or receptors in rat exposed to repeated restraint stress // Horm. Behav. – 2006. – Vol. 49 (5). – P. 615–625.
54. Khansari D. N., Murgo A. J., Faith R. E. Effects of stress on the immune system // Immunol. Today. – 1990. – Vol. 11 (5). – P. 170–175.
55. Glaser R., Kiecolt-Glaser J. K. Stress-induced immune dysfunction: implications for health // Nat. Rev. Immunol. – 2005. – Vol. 5 (3). – P. 243–251.
56. Kemeny M. E. Understanding the interaction between psychosocial stress and immune-related disease: a stepwise progression // Brain Behavior Immun. – 2007. – Vol. 21 (8). – P. 1009–1018.
57. Joel E., Dimsdal M. D. Psychological stress and cardiovascular disease // J. Am. Coll. Cardiol. – 2008. – Vol. 15 (13). – P. 1237–1246.
58. Pajovic S. B., Radojic M. B., Kanazir D. T. Neuroendocrine and oxidoreductive mechanisms of stress-induced cardiovascular diseases // Physiol. Res. – 2008. – Vol. 57 (3). – P. 327–338.
59. Mayer E. A. The neurobiology of stress and gastrointestinal disease // Gut. – 2000. – Vol. 47 (6). – P. 861–869.

60. *Stengel A., Tache Y.* Corticotropin-releasing factor signaling and visceral response to stress // *Exp. Biol. Med.* – 2010. – Vol. 235 (10). – P. 1168–1178.
61. *Успенский Ю. П., Балукова Е. В.* Патоморфоз тревожного расстройства у больных с дисбиозом кишечника // *Эксперимент. клинич. гастроэнтерол.* – 2009. – Vol. 7. – С. 91–96.
62. *Elsenbruch S., Wang L., Hollesbach S. et al.* Pseudo-affective visceromotor responses and HPA axis activation following colorectal distension in rats with increased cholinergic sensitivity // *Neurogastroenterol. Motil.* – 2004. – Vol. 16 (6). – P. 801–809.
63. *Gareau M. G., Jury J., Yang P. C. et al.* Neonatal maternal separation causes colonic dysfunction in rat pups including impaired host resistance // *Pediatr. Res.* – 2006. – Vol. 59 (1). – P. 83–88.
64. *Gareau M. G., Jury J., MacQuen G. et al.* Probiotic treatment of rat pups normalizes corticosterone release and ameliorates colonic dysfunction induced by maternal separation // *Gut.* – 2007. – Vol. 56 (11). – P. 1522–1528.
65. *Teitelbaum A. A., Gareau M. G., Jury J. et al.* Chronic peripheral administration of corticotropin-releasing factor causes colonic barrier dysfunction similar to psychological stress // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2008. – Vol. 295 (3). – P. G452–G459.
66. *Binder E. B., Nemeroff C. B.* The CRF system, stress, depression and anxiety-insights from human genetic studies // *Mol. Psychiatry.* – 2009. – Vol. doi: 10.1038/mp.2009.141.
67. *Chrousos G. P., Gold P. W.* The concepts of the stress and stress disorders // *JAMA.* – 1992. – Vol. 267 (9). – P. 1244–1252.
68. *Stratakis C. A., Chrousos G. P.* Neuroendocrinology and pathophysiology of the stress system // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 1995. – Vol. 771. – P. 1–18.
69. *Velucci S. V., Parrott R. F.* Vasopressin and oxytocin gene expression in the porcine forebrain under basal conditions and following acute stress *Neuropeptides.* – 1997. – Vol. 31 (5). – P. 431–438.
70. *Tsigos C., Chrousos G. P.* Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress // *J. Psychosom. Res.* – 2002. – Vol. 53 (4). – P. 865–871.
71. *Kvetnansky R., Sabban E. L., Palkovits M.* Catecholaminergic systems in stress: structural and molecular generic approaches // *Physiol. Rev.* – 2009. – Vol. 89 (2). – P. 535–606.
72. *Henley D. E., Kaye J. M., Lightman S. L.* The endocrine response to stress // *Oxford Textbook Endocrinol Diabetes.* – 2011. – Vol. 2 (1). – med-9789199235292.
73. *Aguilera G., Kiss A., Luo X., Akbasak B. S.* The renin angiotensin system and the stress response // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 1995. – Vol. 771. – P. 173–186.
74. *Oudart N.* The renin-angiotensin system: current data // *Ann. Pharm. Fr.* – 2005. – Vol. 63 (2). – P. 144–153.
75. *Rush J. W., Aultman C. D.* Vascular biology of angiotensin and the impact of physical activity // *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* – 2008. – Vol. 33 (1). – P. 162–172.
76. *Duque B., Leppanen E. A., Teppo A. M.* Effects of physiological stress on plasma interleukins-1 beta and 6, C-reactive protein, tumor necrosis factor alpha, anti-diuretic hormone and serum cortisol *Scand. J. Clin. // Lab. Invest.* – 1993. – Vol. 53 (6). – P. 555–561.
77. *Su Y., Xie Z., Xin G. et al.* Predator exposure-induced cerebral interleukins are modulated heterogeneously by behavioral asymmetry // *Immunol. Lett.* – 2011. – Vol. 135 (1–2). – P. 158–164.

78. Kuo L. E., Zukowska Z. Stress, NPY and vascular remodeling: implications for stress-related diseases // *Peptides*. — 2007. — Vol. 28 (2). — P. 435–440.
79. Ebner K., Singewald N. The role of substance P in stress and anxiety response // *Amino acids*. — 2006. — Vol. 31 (3). — P. 251–272.
80. Ebner K., Muigg P., Singewald G., Singewald N. Substance P in stress and anxiety: NK-1 receptor antagonism interacts with key brain areas of the stress circuitry // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* — 2008. — Vol. 1144. — P. 61–73.
81. Free C. A., Paik V. S. Adrenal steroidogenic action of cyclic nucleotide derivatives in rat // *Endocrinol.* — 1977. — Vol. 100 (5). — P. 1287–1293.
82. Rae P. A., Gutmann N. S., Tsao J., Schimmer B. P. Mutations in cyclic AMP-dependent protein kinase and corticotropin (ACTH)-sensitive adenylate cyclase affect adrenal steroidogenesis // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 1979. — Vol. 76 (4). — P. 1896–1900.
83. Ulrich-Lai Y. M., Figueiredo H. F., Ostrander M. M. et al. Chronic stress induces adrenal hyperplasia and hypertrophy in a subregion-specific manner // *Endocrinol. Metab.* — 2006. — Vol. 291 (5). — P. E965–E973.
84. Martinez V., Wang L., Million M. et al. Urocortins and the regulation of gastrointestinal motor function and visceral pain // *Peptides*. — 2004. — Vol. 25 (10). — P. 1733–1744.
85. Porcher C., Peinnequin A., Pellissier S. et al. Endogenous expression and *in vitro* study of CRF-related peptides and CRF receptors in the rat gastric antrum // *Peptides*. — 2006. — Vol. 27 (6). — P. 1464–1475.
86. Hauger R. L., Grigoriadis D. E., Dallman M. F. et al. International Union of Pharmacology. Current status of the nomenclature for receptors for corticotropin-releasing factor and their ligands // *Pharmacol. Rev.* — 2003. — Vol. 55 (1). — P. 21–26.
87. Tache Y., Martinez V., Wang L., Million M. CRF1 receptor signaling pathways are involved in stress-related alterations of colonic function and viscerosensitivity: implications for irritable bowel syndrome // *Br. J. Pharmacol.* — 2004. — Vol. 141 (8). — P. 1321–1330.
88. Bale T. L., Vale W. W. CRF and CRF receptor: role in stress responsivity and other behaviors // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* — 2004. — Vol. 44. — P. 525–557.
89. Grigoriadis D. E., Lovenberg T. W., Chalmers D. T. et al. Characterization of corticotropin-releasing factor receptor subtypes // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* — 1996. — Vol. 780. — P. 60–80.
90. Black P. H. Stress and inflammatory response: a review of neurogenic inflammation // *Brain Behav. Immunol.* — 2002. — Vol. 16 (6). — P. 622–653.
91. Hillhouse E. W., Grammatopoulos D. K. The molecular mechanisms underlying the regulation of the biological activity of corticotropin-releasing hormone receptors: implications for physiology and pathophysiology // *Endocr. Rev.* — 2006. — Vol. 27 (3). — P. 260–286.
92. Gutknecht E., Van der Linden I., Van Kolen K. et al. Molecular mechanisms of corticotropin-releasing factor receptor-induced calcium signaling // *Mol. Pharmacol.* — 2009. — Vol. 75 (3). — P. 648–657.
93. Grossini E., Molnari C., Mary D. A. et al. Urocortin II induces nitric oxide production through cAMP and Ca<sup>2+</sup> related pathways in endothelial cells *Cell Physiol Biochem.* — 2009. — Vol. 23 (1–3). — P. 87–96.
94. Wu S. V., Yuan P. Q., Wang L. et al. Identification and characterization of multiple corticotropin-releasing factor type 2 receptor isoforms in the rat esophagus // *Endocrinol.* — 2007. — Vol. 148 (4). — P. 1675–1687.

95. Potter E., Behan D. P., Fischer W. H. et al. Cloning and characterization of the cDNAs for human and rat corticotropin releasing factor-binding proteins // *Nature*. – 1991. – Vol. 349 (6308). – P. 423–426.
96. Behan D. P., Souza E. B., Lowry P. J. et al. Corticotropin releasing factor (CRF) binding protein: a novel regulator of CRF and related peptides // *Front Neuroendocrinol.* – 1995. – Vol. 16 (4). – P. 362–382.
97. Markovic D., Lehnert H., Levine M. A., Grammatopoulos D. K. Structural determinants critical for localization and signaling within the seventh transmembrane domain of the type 1 corticotropin releasing hormone receptor: lessons from the receptor variant R1d // *Mol. Endocrinol.* – 2008. – Vol. 22 (11). – P. 2505–2519.
98. Zmijewski M. A., Slominski A. T. CRF1 receptor splicing in epidermal keratinocytes: potential biological role and environmental regulations // *J. Cell Physiol.* – 2009. – Vol. 218 (3). – P. 593–602.
99. Larauche M., Kiank C., Tache Y. Corticotropin releasing factor signaling in colon and ileum: regulation by stress and pathophysiological implications // *J. Physiol.* – 2009. – Vol. 60 (7). – P. 33–44.
100. Bunnett N. W. The stressed gut: contributions of intestinal stress peptides to inflammation and motility // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2005. – Vol. 102 (21). – P. 7409–7410.
101. Stengel A., Tache Y. Neuroendocrine control of the gut during stress: corticotropin-releasing factor signaling pathways in the spotlight // *Annu. Rev. Physiol.* – 2009. – Vol. 71. – P. 219–240.
102. Lenz H. J., Burlage M., Readler A., Greten H. Central nervous system effects of corticotropin-releasing factor on gastrointestinal transit in rat // *Gastroenterol.* – 1988. – Vol. 94 (3). – P. 598–602.
103. Von Mentzer B., Maruta Y., Ahlstedt I. et al. Functional CRF receptors in BON cells stimulate serotonin release // *Biochem. Pharmacol.* – 2007. – Vol. 73 (6). – P. 805–813.
104. Cao J., Papadopoulou N., Kepuraj D. et al. Human mast cells express corticotropin-releasing hormone (CRH) receptors and CRH leads to selective secretion of vascular endothelial growth factor // *J. Immunol.* – 2005. – Vol. 174 (12). – P. 7665–7675.
105. Kiank C., Tache Y., Larauche M. Stress-related modulation of inflammation in experimental models of bowel disease and post-infectious irritable bowel syndrome: role of corticotropin-releasing factor receptors // *Brain. Behav. Immunol.* – 2010. – Vol. 24 (1). – P. 41–48.
106. Singh L. K., Boucher W., Pang X. et al. Potent mast cell degranulation and vascular permeability triggered by urocortin through activation of corticotropin-releasing hormone receptors // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 1999. – Vol. 288 (3). – P. 1349–1356.
107. Singh V. K., Leu S. J. Enhancing effect of corticotropin-releasing neurohormone on the production of interleukin-1 and interleukin-2 // *Neurosci. Lett.* – 1990. – Vol. 120. – P. 151–154.
108. Tsatsanis C., Androulidaki A., Alissafi T. et al. Corticotropin-releasing factor and the urocortins induce the expression of TLR4 in macrophages via activation of the transcription factor PU.1 and AP-1 // *J. Immunol.* – 2006. – Vol. 176 (3). – P. 1869–1877.
109. Lee H. J., Kwon Y. S., Park C. O. et al. Corticotropin-releasing factor decreases IL-18 in the monocyte-derived dendritic cell // *Exp. Dermatol.* – 2009. – Vol. 18 (3). – P. 199–204.



110. *Castagliuolo I., Lamont J. T., Qiu B.* et al. Acute Stress causes mucin release from rat colon: role of corticotropin-releasing factor and mast cells // *Am. J. Physiol.* – 1996. – Vol. 271 (5 Pt. 1). – P. G884–G892.
111. *Pfeiffer C. J., Qiu B., Lam S. K.* Reduction of colonic mucus by repeated short-term stress enhances experimental colitis in rats // *J. Physiol.* – 2001. – Vol. 95 (1–6). – P. 81–87.
112. *Aberg K. M., Radek K. A., Choi E. H.* et al. Psychological stress downregulates epidermal antimicrobial peptide expression and increases severity of cutaneous infections in mice // *J. Clin. Invest.* – 2007. – Vol. 117 (11). – P. 3339–3349.
113. *Santos J., Saunders P. R., Hanssen N. P.* et al. Corticotropin-releasing hormone mimics stress-induced colonic epithelial pathophysiology in the rat // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 1999. – Vol. 227 (2). – P. G391–G399.
114. *Saunders P. R., Maillot C., Million M., Tache Y.* Peripheral corticotropin-releasing factor induces diarrhea in rats: role of CRF1 receptor in fecal watery excretion // *Eur. J. Pharmacol.* – 2002. – Vol. 435 (2–3). – P. 231–235.
115. *Saunders P. R., Santos J., Hanssen N. P.* et al. Physical and psychological stress in rat enhances colonic epithelial permeability via peripheral CRH // *Dig. Dis. Sci.* – 2002. – Vol. 47 (1). – P. 208–215.
116. *Larauche M., Gourcerol G., Wang L.* et al. Cortagine, a CRF1 agonist, induces stress-like alterations of colonic function and visceral hypersensitivity in rodents primary through peripheral psthways // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2009. – Vol. 297 (1). – P. G215–G227.
117. *Salyers A. A.* Energy sources of major intestinal fermentative anaerobes // *Am. J. Clin. Nutr.* – 1979. – Vol. 32 (1). – P. 158–163.
118. *Comstock L. E., Coyne M. J.* Bacteroides thetaiotaomicron: a dynamic, niche-adapted human symbiont // *Bioessays.* – 2003. – Vol. 25 (10). – P. 926–929.
119. *Rakoff-Nahoum S., Paglino J., Eslami-Varzaneh F.* et al. Recognition of commensal microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis // *Cell.* – 2004. – Vol. 118 (2). – P. 229–241.
120. *Di Meng, Newburg D. S., Young C.* et al. Bacterial symbionts induce a TUF 2-dependent fucosylated niche on colon epithelium via ERK and JNK signaling // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2007. – Vol. 293 (4). – P. G780–G787.
121. *Martenes E. C., Chiang H. C., Gordon J. I.* Mucosal glycan foraging enhances fitness and transmission of a saccharolytic human gut bacterial symbiont // *Cell Host Microbe.* – 2008. – Vol. 4 (5). – P. 447–457.
122. *Comstock L. E.* Importance of glycans to the host-bacteroides mutualism in the mammalian intestine // *Cell Host Microbe.* – 2009. – Vol. 5 (6). – P. 522–526.
123. *Beumer C., Wulferink M., Raaben W.* et al. Calf intestinal alkaline phosphatase, a novel therapeutic drug for lipopolysaccharide (LPS)-mediated diseases, attenuates LPS toxicity in mice and piglets // *J. Pharmacol.* – 2003. – Vol. 307 (2). – P. 737–744.
124. *Vaishnava S., Hooper L. V.* Alkaline phosphatase: keeping the peace at the gut epithelial surface // *Cell Host Microbe.* – 2007. – Vol. 2 (6). – P. 365–367.
125. *Goldberg R. F., Austen W. G. Jr., Zhang X.* Intestinal alkaline phosphatase is a gut mucosal defense factor maintained by enteral nutrition // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2008. – Vol. 105 (9). – P. 3551–3556.
126. *Lalles J. P.* Intestinal alkaline phosphatase: multiple biological roles in maintenance of intestinal homeostasis and modulation by diet // *Nutr. Rev.* – 2010. – Vol. 86 (6). – P. 323–332.

127. Prabhu R., Anup R., Balasubramanian K. A. Surgical stress induces phospholipid degradation in the intestinal brush border membrane // *J. Surg. Res.* — 2000. — Vol. 94 (2). — P. 178–184.
128. Prabhu R., Thomas S., Balasubramanian K. A. Surgical stress-induced alterations in retinoid metabolism in the small intestine: role of oxygen free radicals // *Arch. Biochem. Biophys.* — 2005. — Vol. 434 (2). — P. 299–305.
129. Malo M. S., Biswas S., Abedrapo M. A. et al. The pro-inflammatory cytokines, IL-1 beta and TNF-alpha, inhibit intestinal alkaline phosphatase gene expression DNA // *Cell. Biol.* — 2006. — Vol. 25 (12). — P. 684–695.
130. Lackeyram D., Yang C., Archbold T. et al. Early weaning reduces small intestinal alkaline phosphatase expression in pigs // *J. Nutr.* — 2010. — Vol. 140 (3). — P. 461–468.
131. Watson W. C., Murray E. S., Gardner M. D. Regulation of intestinal alkaline phosphatase levels in the rat // *J. Clin. Path.* — 1967. — Vol. 20 (2). — P. 185–189.
132. Shor R., Halabe A., Rishver S. et al. Severe hypophosphatemia in sepsis as a mortality predictor // *Ann. Clin. Lab. Sci.* — 2006. — Vol. 36 (1). — P. 67–72.
133. Datta H. K., Malik M., Neely R. D. Hepatic surgery-related hypophosphatemia // *Clin. Chim. Acta.* — 2007. — Vol. 380 (1–2). — P. 13–23.
134. Long J., Zaborina O., Holdbrook C. et al. Depletion the phosphate following surgical injury activates the virulence of *P. aeruginosa* causing lethal gut-derived sepsis // *Surg.* — 2008. — Vol. 144 (2). — P. 189–197.
135. Drandhuber B. J., Allerud V. S., Falbel T. G., McKay D. B. Mapping the enzymatic active site of *Pseudomonas aeruginosa* exotoxin A // *Proteins.* — 2002. — Vol. 70 (12). — P. 7136–7139.
136. Yuan P. Q., Wu S. V., Wang L., Tache Y. Corticotropin releasing factor in the rat colon: expression, localization and upregulation by endotoxin // *Peptides.* — 2010. — Vol. 31 (2). — P. 322–331.
137. Wlk M., Wang C. C., Venihaki M. et al. Corticotropin-releasing hormone antagonists posses anti-inflammatory effects in the mouse ileum // *Gastroenterol.* — 2002. — Vol. 123 (2). — P. 505–515.
138. Anton P. M., Gay J., Mykoniatis A. et al. Corticotropin-releasing hormone (CRH) requirement in *Clostridium difficile* toxinA-mediated intestinal inflammation // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2004. — Vol. 101 (22). — P. 8503–8508.
139. La Fleur S. E., Wick E. C., Idumalla P. S. et al. Role of peripheral corticotropin-releasing factor and urocortin II in intestinal inflammation and motility in terminal ileum // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2005. — Vol. 102 (21). — P. 7647–7652.
140. Everest P. Stress and bacteria: microbial endocrinology // *Gut.* — 2007. — Vol. 56 (8). — P. 1037–1038.
141. Vlisidou I., Lyte M., van Diemen P. M. et al. The neuroendocrine stress hormone norepinephrine augments *Escherichia coli* O157:H7-induced enteritis and adherence in a bovine ileal loop model of infection // *Infect. Immun.* — 2004. — Vol. 72 (9). — P. 5446–5451.
142. Gopal R., Birdsell D., Monroy F. P. Regulation of chemokine responses in intestinal epithelial cells by stress and *Toxoplasma gondii* infection // *Parasite Immunol.* — 2011. — Vol. 33 (1). — P. 12–24.
143. Lyte M., Vulchanova L., Brown D. R. Stress at the intestinal surface: catecholamines and mucosa-bacteria interactions // *Cell Tissue Res.* — 2011. — Vol. 343 (1). — P. 23–32.
144. Андреев Б. В., Игнатов Ю. Д., Никитина З. С., Сытинский И. А. Антистрессорная роль ГАМК-ергической системы мозга // *Журн. высш. нервн. деятельности.* — 1982. — Vol. 32 (3). — P. 511–519.

145. DiMicco J. A., Abshire V. M., Hankins K. D. et al. Microinjection of GABA antagonist into posterior hypothalamus elevates heart rate in anesthetized rats // *Neuropharmacol.* — 1986. — Vol. 25 (9). — P. 1063–1066.
146. Nicolarakis K. E., Almeida O. F., Herz A. Stimulation of hypothalamic beta-endorphin and dynorphin release by corticotropin releasing factor (*in vitro*) // *Brain Res.* — 1986. — Vol. 399 (1). — P. 152–155.
147. Werling L. L., Brown S. R., Cox B. M. Opioid receptor regulation on the release of norepinephrine in brain // *Neuropharmacol.* — 1987. — Vol. 26 (1B). — P. 987–996.
148. Calogero A. E. Neurotransmitter regulation of the hypothalamus corticotropin-releasing hormone neuron // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* — 1995. — Vol. 771 (29). — P. 31–40.
149. Koob G. F. Stress, corticotropin-releasing factor and behavior Perspectives in behavioral medicine R. B. Williams (ed.). — N. Y.: Acad. Press, 1985. — P. 39–52.
150. Erdo S. L. Peripheral GABAergic mechanisms // *Trends Pharmacol. Sci.* — 1985. — Vol. 6. — P. 205–208.
151. Snyder S. H. Drug and neurotransmitter receptors in the brain. — 1984. — Vol. 224 (4644). — P. 22–31.
152. Fuder H. Selected aspects of presynaptic modulation of noradrenaline release from heart // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* — 1985. — Vol. 7 (5). — P. S2–S7.
153. Fujimura S., Shimakage H., Tanioka H. et al. Effects of GABA on noradrenalin release and vasoconstriction induced by renal nerve stimulation in isolated perfused rat kidney // *Br. J. Pharmacol.* — 1999. — Vol. 127 (1). — P. 109–114.
154. Guillemain R., Vargo T., Rossier J. et al. beta-Endorphin and adrenocorticotropin are selected concomitantly by the pituitary gland // *Science.* — 1977. — Vol. 197 (4311). — P. 1367–1369.
155. Boarder M. R., McArdle W. E. Opioid peptides in human adrenal: partial characterization and presence of adrenal peptide E // *J. Clin. Endocrinol.* — 1985. — Vol. 61 (4). — P. 658–665.
156. Whitnall M. H., Gainer H., Cox B. M., Molineaux C. J. Dynorphin-A- (1–8) is contained within vasopressin neurosecretory vesicles in rat pituitary // *Science.* — 1983. — Vol. 222 (4628). — P. 1137–1139.
157. Fraioli F., Moretti C., Paolucci G. Physical exercise stimulated marked concomitant release of beta-endorphin and adrenocorticotropic hormone (ACTH) in peripheral blood in man // *Cell. Mol. Life Sci.* — 1980. — Vol. 36 (8). — P. 987–989.
158. Заяц В. И. Ограничение нарушений сократительной функции сердца при экспериментальном инфаркте с помощью предварительной адаптации и нейропептидов: Автореф. дис. ... канд. мед наук. — М., 1986. — 23 с.
159. Орлова Э. Х. Активация системы опиоидных пептидов при адаптации к физической нагрузке и периодической гипоксии: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 1991. — 24 с.
160. Меерсон Ф. З., Дмитриева А. Д., Заец В. И. Влияние стресса, инфаркта и адаптации к коротким стрессорным воздействиям на содержание опиоидных пептидов в головном мозге // *Вопр. мед. хим.* — 1985. — Vol. 31 (5). — С. 32–34.
161. Брагин Е. О., Муди Т., Перт К. Б. и др. Изучение изменений опиат-, бомбензин- и субстанция Р-подобных веществ при обезболивании крыс, вызванном стрессом // *Вопр. мед. хим.* — 1982. — Vol. 28 (5). — С. 44–48.
162. Mougain C., Baulay A., Henriot M. T. et al. Assessment of plasma opioid peptides, beta-endorphin and met-enkephalin, at the end of an international Nordic ski race // *Eur. J. Appl. Occup. Physiol.* — 1987. — Vol. 56 (3). — P. 281–286.

163. Пшениникова М. Г. Роль опиоидных пептидов в реакции организма на стресс // Пат. физиол. — 1987. — Vol. 3. — С. 85-90.
164. *Sudakov K. V.* The delta-sleep inducing peptide in cerebral mechanisms of emotional stress // *J. Evol. Biochem. Physiol.* — 2002. — Vol. 39 (6). — С. 739-751.
165. *Gold P. W., Goodwin F. K., Chrousos G. P.* Clinical and biochemical manifestations of depression. Relation to the neurobiology of stress // *N. Engl. J. Med.* — 1988. — Vol. 319 (7). — P. 413-420.
166. Коляда Т. Н., Волянский Ю. А., Васильев Н. В., Мальцев В. И. Адаптационный синдром и иммунитет. — Харьков: Основа, 1995. — С. 56-64.
167. *Sternberg E. M., Licino J.* Overview of neuroimmune interactions: implications for susceptibility to inflammatory disease // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* — 1995. — P. 364-371.
168. *Samuels M. A.* Neurogenic heart disease: a unifying hypothesis // *Am. J. Cardiol.* — 1987. — Vol. 60 (18). — P. J15-J19.
169. *Samuels M. A.* Neurally induced cardiac damage. Definition of the problem // *Neurol. Clin.* — 1993. — Vol. 11 (2). — P. 273-292.
170. Меерсон Ф. З., Пшениникова М. Г. Стресс-лимитирующие системы организма и новые принципы профилактической кардиологии // Медицина и здравоохранение. — Серия: Проблемы кардиологии. — № 3. — 72 с.
171. Усынин А. Ф. Структурно-метаболические изменения проводящей системы и миокарда, их коррекция при коронарных и стрессорных повреждениях сердца: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — Новосибирск, 1994. — 28 с.
172. *Clarkson T. B., Kaplan J. R., Adams M. R., Manuck S. B.* Psychosocial influences on the pathogenesis of atherosclerosis among nonhuman primates // *Circulation.* — 1987. — Vol. 76 (1). — P. 129-140.
173. *Soufer R., Jain H., Yonn A. J.* Heart-brain interactions in mental stress-induced myocardial ischemia // *Curr. Cardiol. Rep.* — 2009. — Vol. 11 (2). — P. 133-140.
174. *Proietti R., Mapelli D., Volpe B. et al.* Mental stress and ischemic heart disease: evolving awareness of a complex association // *Future Cardiol.* — 2011. — Vol. 7 (3). — P. 425-437.
175. Пшениникова М. Г. Феномен стресса, эмоциональный стресс и его роль в патологии // Патол. физиол. эксперим. терапия. — 2000. — Vol. 2. — С. 24-31.
176. Крыжановский Г. Н., Магаева С. В., Макаров С. В. Нейроиммунопатология. — М., 1997. — С. 24-31.
177. Соколова Е. Б., Берзин Ф. Б., Барлас Т. В. Эмоциональный стресс: психологические механизмы, клинические проявления, психотерапия // *Materia medica.* — 1996. — № 1 (9). — С. 5-25.
178. Судаков К. В. Эмоциональный стресс и психосоматическая патология. Чтения им. А. Д. Сперанского. — М., 1998. — Вып. 10. — С. 11-30.
179. *Marin M. F., Lord C., Andrews J. et al.* Chronic stress, cognitive functioning and mental health // *Neurobiol. Learning Memory.* — 2011. — Vol. 96 (4). — С. 583-595.
180. Плужников Н. Н., Чепур С. В., Быков В. Н. и др. Острые гастродуоденальные язвы: механизмы формирования и подходы к терапии // Научн. тр. НИИЦ (МБЗ) Гос. НИИИИ Военной медицины МО РФ. — Т. 4. — СПб., 2003. — С. 195-212.
181. *Mayer E.* The neurobiology of stress and gastrointestinal disease // *Gut.* — 2000. — Vol. 47 (6). — P. 861-869.
182. *Caso J. R., Leza J. C., Menchen L.* The effects of physical and psychological stress on the gastro-intestinal tract: lessons from animal models // *Curr. Mol. Med.* — 2008. — Vol. 8 (4). — P. 299-312.

183. Logan B. K., Jones A. W. Endogenous ethanol production in a child with short gut syndrome // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* – 2003. – Vol. 36 (3). – P. 419–420.
184. Шабанов П. Д. Основы наркологии. – СПб.: Лань, 2002. – 560 с.
185. Аничков С. В. Нейрофармакология. – Л.: Медицина, 1982. – 384 с.
186. Khan S., O'Brien P. J. Role of the cellular redox state in modulating acute ethanol toxicity in isolated hepatocytes *Clin. // Biochem.* – 1999. – Vol. 32 (7). – P. 585–589.
187. Conduach Birt J. E., Shuker D. E., Farmer P. B. Stable acetaldehyde-protein adducts as biomarkers of alcohol exposure // *Chem. Res. Toxicol.* – 1998. – Vol. 11 (2). – P. 136–142.
188. Manzo-Avalos S., Saavedra-Molina A. Cellular and mitochondrial effects of alcohol consumption // *Int. J. Environ. Res. Public Health.* – 2010. – Vol. 7. – P. 4281–4304.
189. Buxton G. V., Greenstock C. L., Helman W. P., Ross A. B. Critical review of rate constants for reactions of hydrated electrons, hydrogen atoms and hydroxyl radicals ( $\cdot\text{OH}/\cdot\text{O}_2$ ) in aqueous solution // *J. Phys. Chem. Ref. Data.* – 1988. – Vol. 17. – P. 513–886.
190. Yamazaki I., Piette L. H. ESR spin-trapping study on the oxidizing species formed in the reaction of the ferrous ion with hydrogen peroxide // *J. Am. Chem. Soc.* – 1991. – Vol. 113 (20). – P. 7588–7593.
191. Reinke L. A., Rau J. M., McCay P. B. Characteristics of an oxidant formed during iron (II) autoxidation // *Free Rad. Biol. Med.* – 1994. – Vol. 16 (4). – P. 485–492.
192. Reinke L. A. Spin trapping evidence for alcohol-associated oxidative stress // *Free Radic. Biol. Med.* – 2002. – Vol. 32 (10). – P. 953–957.
193. Welch K. D., Davis Z., Aust S. D. Iron autoxidation and free radical generation: effects of the buffers, ligands, and chelators // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2002. – Vol. 397 (2). – P. 360–369.
194. Asmus K. D., Mockel H., Henglein A. Pulse radiolytic study of the site of OH radical attack on aliphatic alcohols in aqueous solution // *J. Phys. Chem.* – 1973. – Vol. 77 (10). – P. 1218–1221.
195. Albano E., Parola M., Comoglio A., Dianzani M. U. Evidence for the covalent binding of hydroxyethyl radicals to rat liver microsomal proteins // *Alcohol.* – 1993. – Vol. 28 (4). – P. 453–459.
196. Clit P., Bellomo G., Tabone M. et al. Detection of antibodies against proteins modified by hydroxyethyl free radicals in patients with alcoholic cirrhosis // *Gastroenterol.* – 1995. – Vol. 108 (1). – P. 201–207.
197. Clot P., Parola M., Bellomo G. et al. Plasma membrane hydroxyethyl radical adducts cause antibody-dependent cytotoxicity in rat hepatocytes exposed to alcohol // *Gastroenterol.* – 1997. – Vol. 113 (1). – P. 265–276.
198. Sakurai L., Stoyanovsky D. A., Fujimoto Y., Cederbaum A. I. Mitochondrial permeability transition induced by 1-hydroxyethyl radical // *Free Radic. Biol. Med.* – 2000. – Vol. 28 (2). – P. 273–280.
199. Stoyanovsky D. A., Wu D., Cederbaum A. I. Interaction of 1-hydroxyethyl radical with glutathione, ascorbic acid and alpha-tocopherol // *Free Radic. Biol. Med.* – 1998. – Vol. 24 (1). – P. 132–138.
200. Puntarulo S., Stoyanovsky D. A., Cederbaum A. I. Interaction of 1-hydroxyethyl radical with antioxidant enzymes // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1999. – Vol. 372 (2). – P. 355–359.

201. Hoek J. B., Thomas A. W., Rubin R., Rubin E. Ethanol-induced mobilization of calcium by activation of phosphoinositide-specific phospholipase C in intact hepatocytes // *J. Biol. Chem.* – 1987. – Vol. 262 (2). – P. 682–691.

202. Gonzalez A., Pariente J. A., Salido G. M. Ethanol stimulates ROS generation by mitochondria through  $\text{Ca}^{2+}$  mobilization and increases GFAP content in rat hippocampal astrocytes // *Brain Res.* – 2007. – Vol. 1178. – P. 28–37.

203. Oba T., Maeno Y., Nagao M. et al. Cellular redox state protects acetaldehyde-induced alteration in cardiomyocyte function by modifying  $\text{Ca}^{2+}$  release from sarcoplasmic reticulum *Heart Circ. Physiol.* – 2008. – Vol. 294 (1). – P. H211–H233.

204. Ullah I., Ullah N., Nasser M. I. et al. Neuroprotection with metformin and thymoquinone against ethanol-induced apoptotic neurodegeneration in prenatal rat cortical neurons *MBC// Neurosci.* – 2012. – Vol. 13. – P. 11. doi: 10.1186/1471-2202-13-11.

205. Zelickson B. R., Benavides G. A., Johnson M. S. et al. Nitric oxide and hypoxia exacerbate alcohol-induced mitochondrial dysfunction in hepatocytes // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2011. – Vol. 1807 (12). – P. 1573–1582.

206. Escames G., Leon J., Macias M. et al. Melatonin counteracts lipopolysaccharide-induced expression of mitochondrial nitric oxide synthase // *FASEB J.* – 2003. – Vol. 17 (8). – P. 932–934.

207. Haorah J., Ramirez S. H., Floreani N. et al. Mechanism of alcohol-induced oxidative stress and neuronal injury // *Free Radic. Biol. Med.* – 2008. – Vol. 45 (11). – P. 1542–1550.

208. Gladden J. D., Zelickson B. R., Wei C. C. et al. Novel insights into interactions between mitochondria and xanthine oxidase in acute cardiac volume overload // *Free Radic. Biol. Med.* – 2011. – Vol. 51 (11). – P. 1975–1984.

209. Irving M. G., Halliday J. W., Powell L. W. Association between alcoholism and increased hepatic iron stores // *Alcoholism Clin. Experiment. Res.* – 1988. – Vol. 12 (1). – P. 7–12.

210. Harrison-Findik D. D. Role of alcohol in the regulation of iron metabolism // *World J. Gastroenterol.* – 2007. – Vol. 13 (37). – P. 4925–4930.

211. Ioannou G. N., Domonitz J. A., Weiss N. S. et al. The effect of alcohol consumption on the prevalence of iron overload, iron deficiency and iron deficiency anemia // *Gastroenterol.* – 2004. – Vol. 126 (5). – P. 1293–1301.

212. Uchiyama A., Kim J. S., Kon K. et al. Translocation of iron from lysosomes into mitochondria is a key event during oxidative stress-induced hepatocellular injury // *Hepatol.* – 2008. – Vol. 48 (5). – P. 1644–1654.

213. Gemma S., Vichi S., Testai E. Individual susceptibility and alcohol affects: biochemical and genetic aspects // *Ann. Ist. Super. Sanita.* – 2006. – Vol. 42 (1). – P. 8–16.

214. Norberg A., Jones A. W., Hahn R. G., Gabrielson J. L. Role of variability in explaining ethanol pharmacokinetics: research and forensic applications // *Clin. Pharmacokinet.* – 2003. – Vol. 42 (1). – P. 1–31.

215. Moon K. H., Hood B. L., Kim B. J. Inactivation of oxidized and S-nitrosylated mitochondrial proteins in alcoholic fatty liver of rats // *Hepatology.* – 2006. – Vol. 44. – P. 1218–1230.

216. Moon K. H., Hood B. L., Mukhopadhyay P. et al. Oxidative inactivation of key mitochondrial proteins leads to dysfunction and injury in hepatic ischemia reperfusion // *Gastroenterol.* – 2008. – Vol. 135 (4). – P. 1344–1357.

217. Reinke L. A., Lai E. K., DuBose C. M., McCay P. B. Reactive free radical generation *In vivo* in heart and liver of ethanol-fed rats: correlation with radical formation *in vitro* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1987. — Vol. 84 (24). — P. 9223-9227.

218. Reinke L. A. Spin trapping evidence for alcohol-associated oxidative stress // Free Radic. Biol. Med. — 2002. — Vol. 32 (10). — P. 953-957.

219. McCay P. B., Reinke L. A., Rau J. M. Hydroxyl radicals are generated by hepatic microsomes during NADPH oxidation: relationship to ethanol metabolism // Free Radic. Res. Commun. — 1992. — Vol. 15 (6). — P. 335-346.

220. Comporti M., Signorini C., Leoncini S. et al. Ethanol-induced oxidative stress: basic knowledge // Genes Nutr. — 2010. — Vol. 5 (2). — P. 101-109.

221. Albano E., Tomasi A., Persson J. O. et al. Role of ethanol-inducible cytochrome P-450 (P-450 2E1) in catalyzing the free radical activation of aliphatic alcohols // Biochem. Pharmacol. — 1991. — Vol. 41 (12). — P. 1895-1902.

222. Rashba-Step J., Turro N. J., Cederbaum A. I. ESR studies on the production of reactive oxygen intermediates by rat liver microsomes in the presence of NADPH or NADH // Arch. Biochem. Biophys. — 1993. — Vol. 300 (1). — P. 391-400.

223. Rashba-Step J., Turro N. J., Cederbaum A. I. Increased NADPH- and NADH-dependent production of superoxide and hydroxyl radical by microsomes after chronic ethanol treatment // Arch. Biochem. Biophys. — 1993. — Vol. 300 (1). — P. 401-408.

224. Stal P., Johansson I., Ingelman-Sundberg M. et al. Hepatotoxicity induced by iron overload: studies on the role of helatable iron, cytochrome P450 2E1 and lipid peroxidation // J. Hepatol. — 1996. — Vol. 25 (4). — P. 535-546.

225. Knecht K. T., Adachi Y., Bradford B. U. et al. Free radical adducts in the bile of rats treated chronically with intragastric alcohol: inhibition by destruction of Kupffer cells // Mol. Pharmacol. — 1995. — Vol. 47 (5). — P. 1028-1034.

226. Kono H., Rusyn I., Yin M. et al. NADPH oxidase-derived free radicals are key oxidants in alcohol-induced liver disease // J. Clin. Invest. — 2000. — Vol. 106 (7). — P. 867-872.

227. Kono H., Rusyn I., Usugi T. et al. Diphenyleneiodonium sulfate, an NADPH oxidase inhibitor, prevents early alcohol-induced liver injury in the rat // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. — 2001. — Vol. 280 (5). — P. G1005-G1012.

228. Upadhyay S. C., Tirumalai P. S., Boyd M. R. et al. Cytochrome P4502E (CYP2E) in brain: constitutive expression, induction by ethanol and localization by fluorescence *in situ* hybridization // Arch. Biochem. Biophys. — 2000. — Vol. 373 (1). — P. 23-34.

229. Anandatheerthavarada H. K., Shankar S. K., Bhamre S. et al. Induction of brain cytochrome P-450IIE1 by chronic ethanol treatment // Brain Res. — 1993. — Vol. 601 (1-2). — P. 279-285.

230. Kapoor N., Pant A. B., Dhawan A. et al. Differences in sensitivity of cultured rat brain neuronal and glial cytochrome 450 2E1 to ethanol // Life Sci. — 2006. — Vol. 79 (16). — P. 1514-1522.

231. Haorah J., Knipe B., Leibhart J. et al. Alcohol-induced oxidative stress in brain endothelial cells causes blood-brain barrier dysfunction // J. Leukoc. Biol. — 2005. — Vol. 78 (6). — P. 1223-1232.

232. Haorah J., Ramirez S. H., Schall K. et al. Oxidative stress activates protein tyrosine kinase and matrix metalloproteinases leading to blood-brain barrier dysfunction // J. Neurochem. — 2007. — Vol. 101 (2). — P. 566-576.

233. Haorah J., Knipe B., Gorantla S. et al. Alcohol-induced blood-brain barrier dysfunction is mediated via inositol 1,4,5-triphosphate receptor (IP3R)-gated intracellular calcium release // J. Neurochem. — 2007. — Vol. 100 (2). — P. 324-336.

234. *Bansal S., Liu C. P., Sepuri N. B.* et al. Mitochondria-targeted cytochrome P450 2E1 induces oxidative damage and augments alcohol-mediated oxidative stress // *J. Biol. Chem.* – 2010. – Vol. 285 (32). – P. 24609–24619.

235. *Knockaert L., Descatoire V., Vadrot N.* et al. Mitochondrial CYP2E1 is sufficient to mediate oxidative stress and cytotoxicity induced by ethanol and acetaminophen // *Toxicol. In Vitro.* – 2011. – Vol. 25 (2). – P. 475–484.

236. *Robin M. A., Sauvage I., Grandperret T.* et al. Ethanol increases mitochondrial cytochrome P450 2E1 in mouse liver and rat hepatocytes // *FEBS Letters.* – 2005. – Vol. 579 (300). – P. 6895–6902.

237. *Adam-Vizi V.* Production of reactive oxygen species in brain mitochondria: contribution by electron transport chain and non-electron transport chain sources // *Antioxid. Redox Signal.* – 2005. – Vol. 7 (9–10). – P. 1140–1149.

238. *Albano E.* Alcohol, oxidative stress and free radical damage // *Proc. Nutr. Soc.* – 2006. – Vol. 65 (3). – P. 278–290.

239. *Mansouri A., Fromenty B., Berson A.* et al. Multiple hepatic mitochondrial DNA deletions suggest premature oxidative aging in alcoholic patients // *J. Hepatol.* – 1997. – Vol. 27 (1). – P. 96–102.

240. *Tsuchishima M., Tsutsumi M., Shiroeda H.* et al. Study of mitochondrial DNA deletion in alcoholics // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* – 2000. – Vol. 24 (4). – P. 12S–15S.

241. *Von Wormb-Schwark N., Ringleb A., Schwark T.* et al. The effect of chronic alcohol consumption on mitochondrial DNA mutagenesis in human blood // *Mutat. Res.* – 2008. – Vol. 637 (1–2). – P. 73–79.

242. *Cunningham C. C., Coleman W. B., Spach P. I.* The effects of chronic ethanol consumption on hepatic mitochondrial energy metabolism // *Alcohol Alcohol.* – 1990. – Vol. 25 (2–3). – P. 127–136.

243. *Cahill A., Cunningham C. C.* Effects of chronic ethanol feeding on the protein composition of mitochondrial ribosomes // *Electrophoresis.* – 2000. – Vol. 21 (16). – P. 3420–3426.

244. *Прагм Дж.* Методы и достижения бионеорганической химии / Под ред. К. МакОлиффа. – М.: Мир, 1978. – С. 133–259.

245. *Зенков Н. К., Меньщиков Е. Б., Шергин С. М.* Окислительный стресс. Диагностика, терапия, профилактика. – Новосибирск: РАМН, Сиб. отд-ние, 1993. – 181 с.

246. *Jackett P. S., Aber V. R., Lowrie D. B.* The susceptibility of strains of mycobacterium tuberculosis to catalase-mediated peroxidative killing // *J. Gen. Microbiol.* – 1980. – Vol. 121 (2). – P. 381–386.

247. *Chance B.* Enzyme-substrate compounds // *Adv. Enzymol.* – 1951. – Vol. 12. – P. 153–190.

248. *Yokota K. N., Yamasaki I.* Analysis and computer simulation of aerobic oxidation of reduced nicotinamide adenine dinucleotide catalyzed by horseradish peroxidase // *Biochem.* – 1977. – Vol. 16 (9). – P. 1913–1920.

249. *Hayashi Y., Yamasaki I.* The oxidation-reduction potentials of compound I/compound II and compound II/ferric couples of horseradish peroxidase A2 and C // *J. Biol. Chem.* – 1979. – Vol. 254 (18). – P. 9101–9106.

250. *Роговин В. В., Муравьев П. А., Пирузян Л. А.* Пероксидазосомы-83 // *Изв. АН СССР. – Сер. Биол.* – 1983. – Vol. 4. – С. 510–519.

251. *Sakura K., Stoyanovsky D. A., Fujimoto Y., Cederbaum A.* Mitochondrial permeability transition induced by 1-hydroxyethyl radical // *Free Radic. Biol. Med.* – 2000. – Vol. 28 (2). – P. 273–280.



252. Зезеров Е. Г. Биохимические механизмы острого и хронического действия этанола на организм человека // *Вопр. биол. мед. фармац. химии.* — 1998. — Vol. 2. — С. 47–55.
253. Давыдов В. В., Божков А. И. Метаболизм эндогенных альдегидов: участие в реализации повреждающего действия оксидативного стресса и его возрастные аспекты // *Биомедицинская химия.* — 2003. — Vol. 49 (4). — С. 374–387.
254. Freeman T. L., Tuma D. J., Thiele G. M. et al. Recent advances in alcohol-induced adduct formation // *Alcohol. Clin. Experiment. Res.* — 2005. — Vol. 29 (7). — P. 1310–1316.
255. Setshedi M., Wands J. R., de la Monte S. M. Acetaldehyde adducts in alcoholic liver disease // *Oxid. Med. Cell. Longev.* — 2010. — Vol. 3 (3). — P. 178–185.
256. Uchida K. Role of reactive aldehyde in cardiovascular diseases // *Free Radic. Biol. Med.* — 2000. — Vol. 28 (12). — P. 1685–1694.
257. Shackelford R. E., Kaufman W. K., Paules R. S. Oxidative stress and cell cycle checkpoint function // *Free Radic. Biol. Med.* — 2000. — Vol. 28 (9). — P. 1387–1404.
258. Rodenhiser D., Mann M. Epigenetics and human disease: translating basic biology into clinical applications // *CMAJ.* — 2006. — Vol. 174 (3). — P. 340–348.
259. Moss T. J., Wallrath L. L. Connections between epigenetic gene silencing and human disease // *Mutat. Res.* — 2007. — Vol. 618 (1–2). — P. 163–174.
260. Abel E., Hannigan J. Maternal risk factors in fetal alcohol syndrome: provocative and permissive influences // *Neurotoxicol. Teratol.* — 1995. — Vol. 17 (4). — P. 445–462.
261. Abel E. An update on incidence of FAS: FAS is not equal opportunity birth defect // *Neurotoxicol. Teratol.* — 1995. — Vol. 17 (4). — P. 437–443.
262. Sokol R. J., Delaney-Black V., Nordstrom B. Fetal alcohol spectrum disorders // *JAMA.* — 2003. — Vol. 290 (22). — P. 2996–2999.
263. Kaminen-Ahola N., Ahola A., Maga M. et al. Maternal ethanol consumption alters the epigenotype and the phenotype of offspring in mouse model *PLoS Genetics.* — 2010. — Vol. 6 (1). — P. e100081.
264. Illingworth R. S., Bird A. P. CpG islands — «a rough guide» // *FEBS Lett.* — 2009. — Vol. 583 (11). — P. 1713–1720.
265. Deaton A. M., Bird A. CpG islands and the regulation of transcription // *Genes Dev.* — 2011. — Vol. 25 (10). — P. 1010–1022.
266. Li E., Bird A. P. DNA methylation in mammals Allis C. D., Jenuwein T., Reinberg D. (eds.) *Epigenetics.* Cold Spring Harbor. — N. Y.: CSHL Press, 2007. — P. 341–356.
267. Jones P. A., Liang G. Rethinking how DNA methylation patterns are maintained // *Nat. Rev. Genet.* — 2009. — Vol. 10 (11). — P. 805–811.
268. Strahl B. D., Allis C. D. The language of covalent histone modifications // *Nature.* — 2000. — Vol. 403 (6765). — P. 41–45.
269. Cosgrove M. S., Woldberger C. How does the histone code work? // *Biochem. Cell. Biol.* — 2005. — Vol. 83 (4). — P. 468–476.
270. Tropberger P., Schneider R. Going global: novel histone modifications in the globular domain of H3 // *Epigenetics.* — 2010. — Vol. 5 (2). — P. 112–117.
271. Goodrich J. A., Kugel J. F. Non-coding-RNA regulators of RNA polymerase II transcription // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* — 2006. — Vol. 7 (8). — P. 612–616.
272. Martianov I., Ramadass A., Serra Barros A. et al. Repression of the human dihydrofolate reductase gene by a non-coding interfering transcript // *Nature.* — 2007. — Vol. 445 (7128). — P. 666–670.

273. *Chen X., Xu H., Yuan P. et al.* Integration of external signaling pathway with the core transcriptional network in embryonic stem cells // *Cell*. – 2008. – Vol. 133 (6). – P. 1106–1117.
274. *Mariner P. D., Walters R. D., Espinoza C. A. et al.* Human Alu RNA is a modulator transacting repressor of mRNA transcription during heat shock // *Mol. Cell*. – 2008. – Vol. 29 (4). – P. 499–509.
275. *Beltran M., Puig I., Pena C. et al.* A natural antisense transcript regulates Zeb2/Sip1 gene expression during Snail1-induced epithelial-mesenchymal transition // *Genes Develop.* – 2008. – Vol. 22 (6). – P. 756–769.
276. *Pauler F. M., Koerner M. V., Barlow P. D.* Silencing by imprinted noncoding RNAs: is transcription the answer // *Trends Genet.* – 2007. – Vol. 23 (6). – P. 284–292.
277. *Centonze D., Rossi S., Napoli I. et al.* The brain cytoplasmic RNA BC1 regulates dopamine D2 receptor-mediated transmission in the striatum // *J. Neurosci.* – 2007. – Vol. 27 (33). – P. 8885–8892.
278. *Bartel D. P.* MicroRNAs: target recognition and regulatory functions // *Cell*. – 2009. – Vol. 136 (2). – P. 215–233.
279. *Shukla G. C., Singh J., Barik S.* MicroRNAs: processing, maturation, target recognition and regulatory functions // *Mol. Cell. Pharmacol.* – 2011. – Vol. 3 (3). – P. 83–92.
280. *Chi S. W., Hannon G. J., Darnell R. B.* An alternative mode of microRNA target recognition // *Nat. Struct. Mol. Biol.* – 2012. – doi: 10.1038/nsmb.2230.
281. *Shukla S. D., Velazquez J., French S. W. et al.* Emerging role of epigenetics in the actions of alcohol // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* – 2008. – Vol. 32 (9). – P. 1525–1534.
282. *Mandrekar P.* Epigenetic regulation in alcoholic liver disease // *World J. Gastroenterol.* 2011. – Vol. 17 (20). – P. 2456–2464.
283. *Ito K., Adcock I. M.* Histone acetylation and histone deacetylation // *Mol. Biotechnol.* – 2002. – Vol. 20 (1). – P. 99–106.
284. *Park P. H., Lim R. W., Shukla S. D.* Involvement of histone acetyltransferase (HAT) in ethanol-induced acetylation of histone H3 in hepatocytes: potential mechanism for gene expression // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2005. – Vol. 289 (6). – P. G1124–G1136.
285. *Huber L. C., Brock M., Hemmatazad H. et al.* Histone deacetylase/acetylase activity in total synovial tissue derived from rheumatoid arthritis and osteoarthritis patients // *Arthritis Rheum.* – 2007. – Vol. 56 (4). – P. 1087–1093.
286. *Lieber C. S., Leo M. A., Wang X., Decarli L. M.* Effect of chronic alcohol consumption on hepatic SIRT1 and PGC-1 $\alpha$  in rats // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2008. – Vol. 370 (1). – P. 44–48.
287. *Nowak S. J., Corces V. G.* Phosphorylation of histone H3: a balancing act between chromosome condensation and transcriptional activation // *Trends Genet.* – 2004. – Vol. 20 (4). – P. 214–220.
288. *Lee Y. J., Shukla S. D.* Histone H3 phosphorylation at serine 10 and serine 28 is mediated by p38 MAPK in rat hepatocytes exposed to ethanol and acetaldehyde // *Eur. J. Pharmacol.* – 2007. – Vol. 573 (1–3). – P. 29–38.
289. *Aroor A. R., James T. T., Jackson D. E., Shukla S. D.* Differential changes in MAP kinases, histone modifications, and liver injury in rats acutely treated with ethanol // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* – 2010. – Vol. 34 (9). – P. 1543–1551.
290. *Rice J. C., Allis C. D.* Histone methylation versus histone acetylation: new insights into epigenetic regulation // *Curr. Opin. Cell Biol.* – 2001. – Vol. 13 (3). – P. 263–273.

291. *Pal-Bhadra M., Bhadra U., Jackson D. E.* et al. Distinct methylation patterns in histone H3 at Lys-4 and Lys-9 correlate with up- and down- regulation of genes by ethanol in hepatocytes // *Life Sci.* – 2007. – Vol. 81 (12). – P. 979–987.
292. *Lu S. C., Martinez-Chantar M. L., Mato J. M.* Methionine adenosyltransferase and S-adenosylmethionine in alcoholic liver disease // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2006. – Vol. 21 (3). – P. S61–S64.
293. *Garro A. J., McBeth D. L., Lima V., Lieber C. S.* Ethanol consumption inhibits fetal DNA methylation in mice: implications for the fetal alcohol syndrome // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* – 1991. – Vol. 15 (3). – P. 395–398.
294. *Jin B., Park D. W., Nam K. W.* et al. CpG methylation of the mouse CYP1A2 promoter // *Toxicol. Lett.* – 2004. – Vol. 152 (1). – P. 11–18.
295. *Barak A. J., Beckenhauer H. C., Tuma D. J.* Methionine synthase: a possible prime site of the ethanolic lesion in liver // *Alcohol.* – 2002. – Vol. 26 (2). – P. 65–67.
296. *Kharbanda K. K.* Alcoholic liver disease and methionine metabolism *Semin. Liver Dis.* – 2009. – Vol. 29 (2). – P. 155–166.
297. *Lu S. C., Huang Z. Z., Yang H.* et al. Changes in methionine adenosyltransferase and S-adenosylmethionine homeostasis in alcoholic rat liver // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2000. – Vol. 279 (1). – P. G178–G185.
298. *Lu S. C., Mato J. M.* Role of methionine adenosyltransferase and S-adenosylmethionine in alcohol-associated liver cancer // *Alcohol.* – 2005. – Vol. 35 (3). – P. 227–234.
299. *Tang Y., Banan A., Forsyth C. B.* et al. Effect of alcohol on miR-212 expression in intestinal epithelial cells and its potential role in alcoholic liver disease // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* – 2008. – Vol. 32 (2). – P. 355–364.
300. *Guo Y., Chen Y., Carreon S., Qiang M.* Chronic intermittent ethanol exposure and its removal induce a different miRNA expression pattern in primary cortical neuronal cultures // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* – 2011. – doi: 10.1111/j.1530-0277.2011.01689.x.
301. *Mandrekar P.* Epigenetic regulation in alcoholic liver disease // *World J. Gastroenterol.* 2011. – Vol. 17 (20). – P. 2456–2464.
302. *Vaca C., Nilson J. A., Fang J. L., Grafstrom R.* Formation of DNA adducts in human buccal epithelial cells exposed to acetaldehyde and methylglyoxal *in vitro* // *Chem. Biol. Inter.* – 1998. – Vol. 108 (3). – P. 197–208.
303. *Inagaki S., Esaka Y., Deyashiki Y.* et al. Analysis of DNA adducts of acetaldehyde by liquid chromatography-mass spectrometry // *J. Chromatography A.* – 2003. – Vol. 987 (1–2). – P. 341–347.
304. *Liutkeviciute Z., Lukinavicius G., Masevicius V.* et al. Cytosine-5-methyltransferases add aldehydes to DNA. *Nat // Chem. Biol.* – 2009. – Vol. 5 (4). – P. 400–402.
305. *Ya H. S., Oyama T., Isse T.* et al. Formation of acetaldehyde-derived DNA adducts due to alcohol exposure // *Chem. Biol. Inter.* – 2010. – Vol. 188 (3). – P. 367–375.
306. *Matveychuk D., Dursun S. M., Wood P. L., Baker G. B.* Reactive aldehydes and neurodegenerative disorders // *Bull. Clin. Psychopharmacol.* – 2011. – Vol. 21 (4). – P. 277–288.
307. *Brooks P. J., Theeruvathu J. A.* DNA adducts from acetaldehyde: implications for alcohol-related carcinogenesis // *Alcohol.* – 2005. – Vol. 35 (3). – P. 187–193.
308. *Batandier C., Leverve X., Fontaine E.* Opening of the mitochondrial permeability transition pore induces reactive oxygen production at the level of the respiratory chain complex I // *J. Biol. Chem.* – 2004. – Vol. 279 (17). – P. 17197–17204.

309. *Mossine V. V., Linetsly M., Glinsky G. et al.* Superoxide free radical generation by Amadori compounds: the role of acyclic forms and metal ions // *Chem. Res. Toxicol.* — 1999. — Vol. 12 (3). — P. 230–236.
310. *Biemel K. M., Reihl O., Conrad J., Lederer M. O.* Formation pathways for lysine-arginine cross-links derived from hexoses and pentoses by Maillard processes // *J. Biol. Chem.* — 2001. — Vol. 276 (26). — P. 23405–23412.
311. *Michiels C., Remacle J.* Cytotoxicity of linoleic acid peroxide, malondialdehyde and 4-hydroxynonenal towards human fibroblasts // *Toxicol.* — 1991. — Vol. 66 (2). — P. 225–234.
312. *Stadtman E. R.* Protein oxidation and aging // *Science.* — 1992. — 253 (5074). — P. 1220–1224.
313. *Berlett B. S., Stadtman E. R.* Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress // *J. Biol. Chem.* — 1997. — Vol. 272 (33). — P. 20313–20316.
314. *Malecki A., Garrido R., Mattson M. P. et al.* 4-hydroxynonenal induces oxidative stress and death of cultured spinal cord neurons // *J. Neurochem.* — 2000. — Vol. 74 (6). — P. 2278–2287.
315. *Yi P., Sun X., Doerge D. R., Fu P. P.* An improved P-32-postlabeling/high-performance liquid chromatography method for the analysis of the malondialdehyde-derived 1,N-2-propanodeoxyguanosine DNA adduct in animal and human tissues // *Chem. Res. Toxicol.* — 1988. — Vol. 11 (9). — P. 1032–1041.
316. *Quijano S. P., Notario P. B., Quijano J. T. et al.* Theoretical study of the malondialdehyde-adducts formed by reaction with DNA-bases // *Vitae Revista de la Facultad de Quimica Farmaceutica.* — 2004. — Vol. 11 (1). — P. 5–12.
317. *Audersirk G., Armstrong D., van den Maagdenberg A. M. et al.* Calcium channels: critical target of toxicants and diseases // *Environ. Health Perspect.* — 2000. — Vol. 108 (12). — P. 1215–1218.
318. *Cai J., Chen J., He H. et al.* Carbonyl stress: malondialdehyde induces damage on rat hippocampal neurons by disturbance of Ca<sup>2+</sup> homeostasis // *Cell. Biol. Toxicol.* — 2009. — Vol. 25 (5). — P. 435–445.
319. *Hjelle J. J., Grubbs J. H., Petersen D. R.* Inhibition of mitochondrial aldehyde dehydrogenase by malondialdehyde // *Toxicol. Lett.* — 1982. — Vol. 14 (1–2). — P. 35–43.
320. *Long J., Liu C., Sun L. et al.* Neuronal mitochondrial toxicity of malondialdehyde: inhibitory effects on respiratory function and enzyme activities in rat brain mitochondria // *Neurochem. Res.* — 2009. — Vol. 34 (4). — P. 786–794.
321. *Morin D., Pires F., Plin C., Tillemen J. P.* Role of the permeability transition pore in cytochrome C release from mitochondria during ischemia-reperfusion in rat liver // *Biochem. Pharmacol.* — 2004. — Vol. 68 (10). — P. 2065–2073.
322. *Cai Y., Gong L. K., Qi X. M. et al.* Apoptosis initiated by carbon tetrachloride in mitochondria of rat primary cultured hepatocytes // *Acta Pharmacol. Sci.* — 2005. — Vol. 26 (8). — P. 969–975.
323. *Meyer U., Ihle W., Moller R. et al.* Effect of early and late postnatal hypoxia on subcellular synaptosomal fractions from cerebral cortex of rats. I. An electron-microscopical and biochemical study // *J. Hirnforsch.* — 1986. — Vol. 27 (3). — P. 243–254.
324. *Ramachandran A., Levonen A. L., Brookes P. S. et al.* Mitochondria, nitric oxide, and cardiovascular dysfunction // *Free Radic. Biol. Med.* — 2002. — Vol. 33 (11). — P. 1465–1474.

325. Joyce O. J., Farmer M. K., Tipton K. F., Porter R. K. Oxidative phosphorylation by *in situ* synaptosomal mitochondria from whole brain of young and old rats // *J. Neurochem.* — 2003. — 86 (4). — P. 1032–1041.
326. Шевцова Е. Ф., Куреева Е. Г., Бочурин С. О. Митохондрии как мишень действия нейропротекторных препаратов // *Вестник РАМН.* — 2005. — Vol. 9. — P. 13–16.
327. Бра М., Квинан Б., Сузин С. А. Митохондрии в программированной гибели клеток: различные механизмы гибели // *Биохимия.* — 2005. — Vol. 70 (2). — P. 284–293.
328. Su K. G., Banker G., Bourdette D., Forte M. Axonal degeneration in multiple sclerosis: the mitochondrial hypothesis // *Cur. Neurol. Neurosci. Rep.* — 2009. — Vol. 9 (5). — P. 411–417.
329. Alirezaei M., Kemball C. C., Whitton J. L. Autophagy, inflammation and neurodegenerative disease Eur. // *J. Neurosci.* — 2011. — Vol. 33 (2). — P. 197–204.
330. Wing S., Chiang H. L., Goldberg A. L., Dice J. F. Proteins containing peptide sequences related to KFERQ are selectively depleted in liver and heart, but not skeletal muscle, of fasted rats // *Biochem. J.* — 1991. — Vol. 275 (1). — P. 165–169.
331. Dice J. F. Peptide sequences that target cytosolic proteins for lysosomal proteolysis // *Trends Biochem. Sci.* — 1990. — Vol. 15 (8). — P. 305–309.
332. Cuervo A. M., Dice J. F. A receptor for the selective uptake and degradation of proteins by lysosomes // *Science.* — 1996. — Vol. 273 (5274). — P. 501–503.
333. Kaushik S., Bandyopadhyay U., Sridhar S. et al. Chaperon-mediated autophagy at a glance // *J. Cell. Sci.* — 2011. — Vol. 124 (4). — P. 495–499.
334. Arias E., Cuervo A. M. Chaperon-mediated autophagy in protein quality control // *Curr. Opin. Cell. Biol.* — 2011. — Vol. 23 (2). — P. 184–189.
335. Ding W. X., Manley S., Ni H. M. The emerging role of autophagy in alcoholic liver disease // *Exp. Biol. Med. (Maywood).* — 2011. — Vol. 236 (5). — P. 546–556.
336. Sahu R., Kaushik S., Clement C. C. et al. Microautophagy of cytosolic proteins by late endosomes Develop // *Cell.* — 2011. — Vol. 20 (1). — P. 131–139.
337. Gutierrez M. G., Master S. S., Singh S. B. et al. Autophagy is a defense mechanism inhibiting BCG and Mycobacterium tuberculosis survival in infected macrophages // *Cell.* — 2004. — Vol. 119 (6). — P. 753–766.
338. Rubinsztein D. C., DiFiglia M., Heintz N. et al. Autophagy and its possible roles in nervous system diseases, damage and repair // *Autophagy.* — 2005. — Vol. 1 (1). — P. 11–22.
339. Schmid D., Munz C. Innate and adaptive immunity through autophagy // *Immun.* — 2007. — Vol. 27 (1). — P. 11–21.
340. Thurston T. L. M., Wandel M. P., Muhlinen N. et al. Galectin 8 targets damaged vesicles for autophagy to defend cells against bacterial invasion // *Nature.* — 2012. — Vol. 482 (7385). — P. 414–418.
341. Klionsky D. J., Emr S. D. Autophagy as a regulated pathway of cellular degradation // *Science.* — 2000. — Vol. 290 (5497). — P. 1717–1721.
342. Yin X. M., Ding W. X., Gao W. Autophagy in the liver // *Hepatology.* — 2008. — Vol. 47 (5). — P. 1773–1785.
343. You M., Matsumoto M., Pacold C. M. et al. The role of AMP-activated protein kinase in the action of ethanol in the liver // *Gastroenterol.* — 2004. — Vol. 127 (6). — P. 1798–1808.
344. Meley D., Bauvy C., Houbert-Weerts J. H. et al. AMP-activated protein kinase and the regulation of autophagic proteolysis // *J. Biol. Chem.* — 2006. — Vol. 281 (46). — P. 34870–34879.

345. *Meijer A. J., Codagno P.* Regulation and role of autophagy in mammalian cells // *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* — 2004. — Vol. 36 (12). — P. 2445–2462.
346. *Young T. A., Bailey S. M., Van Horn C. G., Cunningham C. C.* Chronic ethanol consumption decreases mitochondrial and glycolytic production of ATP in liver // *Alcohol Alcohol.* — 2006. — Vol. 41 (3). — P. 254–260.
347. *Danohue T. M. Jr., Zetterman R. K., Tuma D. J.* Effect of chronic ethanol administration on protein catabolism in rat liver // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* — 1989. — Vol. 13 (1). — P. 49–57.
348. *Bernal C. A., Vazquez J. A., Adibi S. A.* Leucine metabolism during chronic ethanol consumption // *Metabolism.* — 1993. — Vol. 42 (9). — P. 1084–1086.
349. *Casey C. A., Kragoskow S. L., Sorrell M. F., Tuma D. J.* Chronic ethanol administration impairs the binding and endocytosis of asialo-orosomucoid in isolated hepatocytes // *J. Biol. Chem.* — 1987. — Vol. 262 (6). — P. 2704–2710.
350. *Casey C. A., Kragoskow S. L., Sorrell M. F., Tuma D. J.* Zonal differences in ethanol-induced impairments in receptor-mediated endocytosis of asialoglycoproteins in isolated hepatocytes // *Hepatology.* — 1991. — Vol. 13 (2). — P. 260–266.
351. *Kharbando K. K., McVicker D. L., Zetterman R. K., Donahue T. M. Jr.* Ethanol consumption alters trafficking of lysosomal enzymes and affects the processing of procathepsin L in rat liver // *Biochim. Biophys. Acta.* — 1996. — Vol. 1291 (1). — P. 45–52.
352. *Шорманов С. В., Шорманов Н. С.* Морфометрическая характеристика структур головного мозга человека в норме и в условиях острой интоксикации этанолом // *Морфология.* — 2004. — Vol. 47 (5). — P. 56–60.
353. *Mattson M. P.* Apoptotic and anti-apoptotic synaptic signaling mechanisms // *Brain. Pathol.* — 2000. — Vol. 10 (2). — P. 300–312.
354. *Mattson M. P., Keller J. N., Begley J. G.* Evidence for synaptic apoptosis // *Exp. Neurol.* — 1998. — Vol. 153 (1). — P. 35–48.
355. *Gilman C. P., Mattson M. P.* Do apoptotic mechanisms regulate synaptic plasticity and growth-cone motility? // *Neuromolecular Med.* — 2002. — Vol. 2 (2). — P. 197–214.
356. *Rosenbloom M., Sullivan E. V., Pfefferbaum A.* Using magnetic resonance imaging and diffusion imaging to assess brain damage in alcoholics // *Alcohol Res. Health.* — 2003. — Vol. 27 (2). — P. 146–152.
357. *Kjellstrom C., Almstrom S., Conradi N.* Decreased synapse-to-neuron ratio in rat locus ceruleus following chronic ethanol feeding // *Alcohol.* — 1993. — Vol. 17 (2). — P. 406–410.
358. *Crews F. T.* Alcohol and neurodegeneration CNS // *Drug Reviews.* — 1999. — Vol. 5 (4). — P. 379–394.
359. *Wang Z. Y., Miki T., Lee K. Y. et al.* Short-term exposure to ethanol causes a different response between nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor ligand/receptor systems in the mouse cerebellum // *Neurosci.* — 2010. — Vol. 165 (2). — P. 485–491.
360. *Doweko H. E.* Concepts of chemical dependency. 7<sup>th</sup> ed. — Calif.: Brooks/Cole Publishing Co Pacific Grove, 2009. — 548 p.
361. *Norton F., Halay L.* Cognitive brain deficits associated with alcohol abuse: treatment implications // *AABSS J.* — 2011. — P. 15.
362. *Морозов Ю. Е., Козлова Т. В., Маммадов В. К.* Активность этанол- и альдегидокисляющих ферментов головного мозга при отравлении этиловым спиртом // *Суд.-мед. экспертиза.* — 2004. — Vol. 5. — P. 18–21.

363. Пиголкин Е. Ю., Морозов Ю. Е., Маммадов В. К. Этанолокисляющие ферменты надпочечников при острой алкогольной интоксикации // Суд.-мед. экспертиза. — 2004. — 4. — С. 24–29.

364. Морозов Ю. Е., Васильева Е. В., Маммадов В. К., Саломатин Е. М. Диагностическое значение определения ацетальдегида в крови, моче и ликворе // Суд.-мед. экспертиза. — 2003. — № 4. — С. 35–37.

365. Крылов И. Н. Древнейшие следы жизни // Природа. — 1985. — № 9. — С. 68–76.

366. Телегина Т. А., Давидянц С. Б. Реакция Майяра: аминок-карбонильные взаимодействия *In vivo* и меланоидины // Успехи биол. химии. — 1995. — Vol. 35. — С. 229–266.

367. Галенок В. А., Боднар П. Н., Диккер В. Е., Ромашкин С. В. Гликированные протеины. — Новосибирск: Наука, 1989. — 258 с.

368. Голубева А. Г. Изнанка метаболизма // Биохимия. — 1996. — № 61 (11). — С. 2018–2039.

369. Ruderman N., Williamson J. R., Brownlee M. Glucose and diabetic vascular disease // FASEB J. — 1992. — Vol. 6 (11). — P. 2905–2914.

370. Агаджанян З. С., Дмитриев Л. Ф. Новая роль фосфоглюкозоизомеразы. Защита клеточных структур от малонового диальдегида // Доклады АН. — 2005. — Vol. 403 (3). — С. 405–408.

371. Seidler N. W., Kowalewsky C. Methylglyoxal-induced glycation affects protein topography // Arch. Biochem. Biophys. — 2003. — Vol. 410 (1). — P. 149–154.

372. Traverso N., Menini S., Maineri E. P. et al. Malondialdehyde, a lipoperoxidation-derived aldehyde, can bring about secondary oxidative damage to proteins // J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci. — 2004. — Vol. 59 (9). — P. B890–B895.

373. Mooradian A. D., Reinacher D., Li J. P., Pinnas J. Malondialdehyde modifications of proteins *in vitro* is enhanced in the presence of acetaldehyde // Nutrition. — 2001. — Vol. 17 (7–8). — P. 619–622.

374. Kalapos M. P. The tandem of free radicals and methylglyoxal // Chem. Biol. Inter. — 2008. — Vol. 171 (3). — P. 251–271.

375. Vander Jagt D. L., Hunsaker L. A. Enzymology of methylglyoxal metabolism: implications for prevention of formation of advanced glycation endproducts // Chem. Biol. Interact. — 2003. — Vol. 143–144 (1). — P. 149–154.

376. Mannervik B. Molecular enzymology of the glyoxalase system // Drug Metab. Drug Interact. — 2008. — Vol. 23 (1–2). — P. 13–27.

377. Stodeman M., Schwarz F. P. Importance of product/reactant equilibration in the kinetics of the phosphoglucose isomerization reaction by differential stopped flow microcalorimetry // Analyt. Biochem. — 2004. — Vol. 329 (2). — P. 307–315.

378. Vander Jagt D. L., Hassebrook R. K., Hunsaker L. A. et al. Metabolism of the 2-oxoaldehyde methylglyoxal by aldose reductase and by glyoxalase-1: roles for glutathione on both enzymes and implications for diabetic complications // Chem. Biol. Interact. — 2001. — Vol. 130–132. — P. 549–562.

379. Cordell P. A., Futers T. S., Grant P. J., Pease R. J. The human hydroxyacylglutathione hydrolase (HAGH) gene encodes both cytosolic and mitochondrial forms glyoxalase II // J. Biol. Chem. — 2004. — Vol. 279 (27). — P. 28653–28661.

380. Thornalley P. J. The glyoxalase system: new developments towards functional characterization of a metabolic pathway fundamental to biological life // Biochem. J. — 1990. — Vol. 269 (1). — P. 1–11.

381. *Vander Jagt D. L.* Glyoxalase II: molecular characteristics, kinetics and mechanism // *Biochem. Soc. Trans.* — 1993. — Vol. 21 (2). — P. 522–527.

382. *Иванец Н. Н.* Антидепрессанты в терапии патологического влечения к психоактивным веществам. — М.: Инкофонт, 1997. — С. 3–10.

383. *Бородкина Л. Е., Тюренков И. Н., Ковтун В. В.* Хроническая алкоголизация и ГАМК-ергическая система // *Эксперим. клин. фармакол.* — 2002. — Vol. 65 (3). — С. 75–79.

384. *Malcolm R. J.* GABA systems, benzodiazepines, and substance dependence // *J. Clin. Psychiatry.* — 2003. — Vol. 64 (3). — P. 36–40.

385. *Krystal J. H., Staley J., Mason G. et al.* Gamma-aminobutyric acid type A receptors and alcoholism: intoxication, dependence, vulnerability, and treatment // *Arch. Gen. Psychiatry.* — 2006. — Vol. 63 (9). — P. 957–968.

386. *Hoffman P. L.* NMDA receptors in alcoholism // *Inter. Rev. Neurobiol.* — 2003. — Vol. 56. — P. 35–82.

387. *Pian J. P., Criado J. R., Milner R., Ehlers C. L.* N-methyl-D-aspartate receptor subunit expression in adult adolescent brain following chronic ethanol exposure // *Neurosci.* — 2010. — Vol. 170 (2). — P. 645–654.

388. *Khanna J. M., Kalant H., Le A. D., LeBlanc A. E.* Role of serotonergic and adrenergic systems in alcohol tolerance // *Progr. Neuro-Psychopharm.* — 1981. — Vol. 5 (5–6). — P. 459–465.

389. *Le A. D., Harding S., Juzysch W. et al.* Role of alpha-2 adrenoceptors in stress-induced reinstatement of alcohol seeking and alcohol self-administration in rats // *Psychopharmacol.* — 2005. — Vol. 179 (2). — P. 366–373.

390. *Naranjo C. A., Knoke D. M.* The role of selective serotonin reuptake inhibitors in reducing alcohol consumption // *J. Clin. Psychiatry.* — 2001. — Vol. 26 (20). — P. 18–25.

391. *Petrakis I. L.* A rational approach to the pharmacotherapy of alcohol dependence // *J. Clin. Psychopharmacol.* — 2006. — Vol. 26 (1). — P. S3–S12.

392. *Noble E. P.* Alcoholism and the dopaminergic system: a Review // *Addict. Biol.* — 1996. — Vol. 1 (4). — P. 333–348.

393. *Chen C., Chen C., Moyzis R. et al.* Genetic variations in the dopaminergic system and alcohol use: a systemic-level analysis // *Addict. Biol.* — 2011. — Vol. 17 (2). — P. 479–489.

394. *Kato H.* Pharmacological effects of mu-opioid receptor antagonist naltrexone on alcohol dependence // *Nihon Arukoru Yakubutsu Igakkai Zasshi.* — 2008. — Vol. 43 (5). — P. 697–704.

395. *Manzanares J., Ortiz S., Oliva J. M. et al.* Interactions between cannabinoid and opioid receptors system in the mediation of ethanol effects // *Alcohol. Alcohol.* — 2005. — Vol. 40 (1). — P. 25–34.

396. *Perra S., Pillolla G., Melis M. et al.* Involvement of the endogenous cannabinoid system in the effects of alcohol in the mesolimbic reward circuit: electrophysiological evidence *in vivo* // *Psychopharmacol.* — 2005. — Vol. 183 (3). — P. 387–397.

397. *Davies M.* The role of GABA<sub>A</sub> receptors in mediating the effects of alcohol in the central nervous system // *J. Psychiatry Neurosci.* — 2003. — Vol. 28 (4). — P. 263–274.

398. *Suryanarayanan A., Liang J., Meyer E. M. et al.* Subunit compensation and plasticity of synaptic GABA (A) receptors induced by ethanol in  $\alpha 4$  subunit knockout mice *Front // Neurosci.* — 2011. — Vol. 5. — P. 110.



399. *Spanagel R.* Die Rolle des glutamatergen Systems bei Alkoholsucht // *Forsch. Neurol. Psychiatr.* — 2003. — Vol. 71 (1). — P. S33-S35.
400. *Thoma R., Mullins P., Ruhl D.* et al. Perturbation on the glutamate-glutamine system in alcohol dependence and remission // *Neuropsychopharmacol.* — 2011. — Vol. 36 (7). — P. 1359-1365.
401. *Калишевич С. Ю.* Патогенетические механизмы, биохимическая диагностика и фармакологическая реабилитация при алкоголизме: Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. — СПб., 1998. — 40 с.
402. *Kharchenko N. K., Synytskyi V. M., Kovtun T. V.* et al. Excretion of catecholamines in development of the opium and alcohol abstinence syndrome and in post-abstinence period // *Ukr. Biokhim. Zh.* — 2003. — Vol. 75 (3). — P. 119-123.
403. *Simpson T. L., Saxon A. J., Meredith C. W.* et al. A pilot trial of the alpha-1 adrenergic antagonist, prazosin, for alcohol dependence // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* — 2009. — Vol. 33 (2). — P. 255-263.
404. *Clarke T. K., Dempster E., Docherty S.* et al. Multiple polymorphism in genes of the adrenergic stress system confer vulnerability to alcohol abuse // *Addic. Biol.* — 2012. — Vol. 17 (1). — P. 202-208.
405. *Mravec B.* Salsolinol, a derivate of dopamine, is a possible modulator of catecholaminergic transmission: a review of recent developments // *Physiol. Res.* — 2006. — Vol. 55 (4). — P. 353-364.
406. *Putscher I., Hober H., Winkler A.* et al. Effect of S (-)- and R (+)-salsolinol on the POMC gene expression and ACTH release of an anterior pituitary cell line // *Alcohol.* — 1995. — Vol. 12 (5). — P. 447-452.
407. *Matsuzawa S., Suzuki T., Misawa M.* Involvement of mu-opioid receptor in the salsolinol-associated place preference in rats exposed to conditioned fear stress // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* — 2000. — Vol. 24 (3). — P. 366-372.
408. *Blum K., Trachtenberg M. C.* Alcoholism: scientific basis of a neuropsychogenic disease // *Int. J. Addict.* — 1998. — Vol. 23 (8). — P. 781-796.
409. *Airaksinen M. M., Kari I.* Beta-Carbolines, psychoactive compounds in the mammalian body. Part II: Effects // *Med. Biol.* — 1981. — Vol. 59 (4). — P. 190-211.
410. *Yu A. M., Idle J. R., Krausz K. W.* et al. Contribution of individual cytochrome P450 isozymes to the O-demethylation of the psychotropic beta-carboline alkaloids harmaline and harmine // *J. Pharm. Exp. Ther.* — 2003. — Vol. 305 (1). — P. 315-322.
411. *Kream R., Stefano G.* De novo biosynthesis of morphine in animal cells: an evidence-based model // *Med. Sci. Monit.* — 2006. — 12 (10). — P. RA207-RA219.
412. *Cardinale G. J., Donnera J., Finck A. D.* et al. Morphine and codeine endogenous components of human cerebrospinal fluid // *Life Sci.* — 1987. — 40 (3). — P. 301-306.
413. *Guama M., Ghelardini C., Galeotti N.* et al. Neurotransmitter role of endogenous morphine in CNS // *Med. Sci. Monit.* — 2005. — 11 (6). — P. PA190-PA193.
414. *Балашов А. М.* Система ГАМК и алкоголизм: существует ли «этанольный рецептор»? // *Журн. неврол. психиатр. им. С. С. Корсакова. пр. «Алкоголизм».* — 2007. — Vol. 1. — С. 56-62.
415. *Green B., Kavanagh D., Young R.* Being stoned: a review of self-reported cannabis effects // *Drug Alcohol Rev.* — 2003. — Vol. 22 (4). — P. 453-460.
416. *Russo E. B.* History of cannabis and its preparations in saga, science, and sobriquet // *Chem. Biodivers.* — 2007. — Vol. 4 (8). — P. 1614-1648.
417. *Zuardi A. W.* History of cannabis as a medicine: a review // *Rev. Bras. Psiquiatr.* — 2006. — Vol. 28 (2). — P. 153-157.

418. Watson S. J., Benson J. A. Jr., Joy J. E. Marijuana and medicine: assessing the science base: a summary of the 1999 Institute of Medicine report // Arch. Gen. Psych. — 2000. — Vol. 57 (6). — P. 547-552.
419. Gaoni Y., Mechoulam R. Isolation, structure and partial synthesis of an active constituent of hashish // J. Am. Chem. Soc. — 1964. — Vol. 86 (8). — P. 1646-1647.
420. Devane W. A., Dysarz F. A., Johnson M. R. et al. Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain // Mol. Pharmacol. — 1988. — Vol. 34 (5). — P. 605-613.
421. Matsuda L. A., Lolait S. J., Brownstein M. J. et al. Structure of cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA // Nature. — 1990. — Vol. 346 (6284). — P. 561-564.
422. Herkenham M., Lynn A. B., Johnson M. R. et al. Characterization and localization of cannabinoid receptors in rat brain: a quantitative *in vitro* autoradiography study // J. Neurosci. — 1991. — Vol. 11 (2). — P. 563-583.
423. Devane W. A., Hanus L., Breuer A. et al. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor // Science. — 1992. — Vol. 258 (5090). — P. 1946-1949.
424. Sugiura T., Kondo S., Sukagawa A. et al. 2-Arachidonoylglycerol: a possible endogenous cannabinoid receptor ligand in brain // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 1995. — Vol. 215 (1). — P. 89-97.
425. Mechoulam R., Ben-Shabat S., Hanus L. et al. Identification of an endogenous 2-monoacylglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors // Biochem. Pharmacol. — 1995. — Vol. 50 (1). — P. 83-90.
426. Hanus L., Abu-Lafi S., Fride E. et al. 2-Arachidonoyl glyceryl ether, an endogenous agonist of the cannabinoid CB1 receptor // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2001. — Vol. 98 (7). — P. 3662-3665.
427. Porter A. C., Sauer J. M., Knierman M. D. et al. Characterization of a novel endocannabinoid, virodhamine, with antagonist activity at the CB1 Receptor // J. Pharmacol. Exp. Ther. — 2002. — Vol. 301 (3). — P. 1020-1024.
428. Howlett A. C., Barth F., Bonner T. I. et al. International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of cannabinoid receptors // Pharmacol. Rev. — 2002. — Vol. 54 (2). — P. 161-202.
429. Vinod K. Y., Hungund B. L. Cannabinoid-1 receptor: a novel target for the treatment of neuropsychiatric disorders // Expert. Opin. Ther. Targets. — 2006. — Vol. 10 (2). — P. 203-210.
430. Mackie K. Signaling via CNS cannabinoid receptors // Mol. Cell. Endocrinol. — 2008. — Vol. 286 (1-2). — P. 60-65.
431. Ahn K., McKinney M. K., Cravatt B. F. Enzymatic pathways that regulate endocannabinoid signaling in the nervous system // Chem. Rev. — 2008. — Vol. 108 (5). — P. 1687-1707.
432. Wegener N., Koch M. Neurobiology and systems physiology of the endocannabinoid system // Pharmacopsychiatry. — 2009. — Vol. 42 (1). — P. S79-S86.
433. Pertwee R. G., Howlett A. C., Abood M. E. et al. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXIX. Cannabinoid receptors and their ligands: beyond CB1 and CB2 // Pharmacol. Rev. — 2010. — Vol. 62 (4). — P. 588-631.
434. Van Sickle M. D., Duncan M., Kingsley P. J. et al. Identification and functional characterization of brainstem cannabinoid CB1 receptors // Science. — 2005. — Vol. 310 (5746). — P. 329-332.

435. Muccoioli G. G., Naslain D., Backhed F. et al. The endocannabinoid system links gut microbiota to adipogenesis // *Mol. Syst. Biol.* — 2010. — Vol. 6. — P. 392. doi: 10.1038/msb.2010.46.
436. Hekkenham M., Lynn A. B., de Costa B. R., Richfield E. K. Neuronal localization of cannabinoid receptors in the basal ganglia of the rat // *Brain Res.* — 1991. — Vol. 547 (2). — P. 267–274.
437. Howlett A. C., Qualy J. M., Khachatrian L. L. Involvement of Gi in the inhibition of adenylate cyclase by cannabinoid drugs // *Mol. Pharmacol.* — 1986. — Vol. 29 (3). — P. 307–313.
438. Basavarajappa B. S., Hungung B. L. Neuromodulatory role of the endocannabinoid signaling system in alcoholism: an overview // *Prostagl. Leukotr. Essent. Fatty Acids.* — 2002. — Vol. 66 (2–3). — P. 287–299.
439. Freund T. F., Katona I., Piomelli D. Role of endogenous cannabinoids in synaptic signaling // *Physiol. Rev.* — 2003. — Vol. 83 (3). — P. 1017–1066.
440. Hillard C. J. Biochemistry and pharmacology of the endocannabinoids arachidonylethanolamide and 2-arachidonylglycerol // *Prostagl. Lipid Mediat.* — 2000. — Vol. 61 (1–2). — P. 3–18.
441. Marrs W. R., Blankman J. L., Horne E. A. et al. The serine hydrolase ABHD6 controls the accumulation and efficacy of 20AG at cannabinoid receptors // *Nat. Neurosci.* — 2010. — Vol. 13 (8):. — P. 951–957.
442. Fox D., Andras P. A. Model of endocannabinoid 2-AG-mediated depolarization-induced suppression of inhibition // *Neurosci.* — 2010. — Vol. 11 (1). — P. 189.
443. Boon F. S., Chamean P., Schaafsma-Zhao Q. et al. Excitability of prefrontal cortical neurons is modulated by activation of intracellular type-2 cannabinoid receptors // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2012. — Vol. 109 (9). — P. 3534–3539.
444. Begg M., Pacher P., Batkai S. et al. Evidence for novel cannabinoid receptors // *Pharmacol. Ther.* — 2005. — Vol. 106 (2). — P. 133–145.
445. Brown A. J. Novel cannabinoid receptors // *Br. J. Pharmacol.* — 2007. — Vol. 152 (5). — P. 567–575.
446. Sharir H., Abood M. E. Pharmacological characterization of GPR55, a putative cannabinoid receptor // *Pharmacol. Ther.* — 2010. — Vol. 126 (3). — P. 301–313.
447. Pertwee R. G., Howlett A. C., Abood M. E. et al. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXIX. Cannabinoid receptors and their ligands: beyond CB<sub>1</sub> and CB<sub>2</sub> // *Pharmacol. Rev.* — 2010. — Vol. 62 (4). — P. 588–631.
448. Marcellino D., Carriba P., Filip M. et al. Antagonistic cannabinoid/dopamine D2 receptor interaction is striatal CB<sub>1</sub>/D2 heterodimers // *Neuropharmacol.* — 2008. — Vol. 54 (5). — P. 815–825.
449. Cinar R., Freund T. F., Katona I. et al. Reciprocal inhibition of G-protein signaling is induced by CB (1) cannabinoid and GABA (B) receptor interaction in rat hippocampal membranes // *Neurochem. Int.* — 2008. — Vol. 52 (8). — P. 1402–1409.
450. Canals M., Milligan G. Constitutive activity of the cannabinoid CB<sub>1</sub> receptor regulates the function of co-expressed Mu opioid receptors // *J. Biol. Chem.* — 2008. — Vol. 283 (17). — P. 11424–11434.
451. Ellis J., Pediani J. D., Canals M. et al. Orexin-1 receptor-cannabinoid CB<sub>1</sub> receptor coordinated alterations of receptor localization and function // *J. Biol. Chem.* — 2006. — Vol. 281 (50). — P. 38812–38824.
452. Hudson B. D., Hebert T. E., Kelly E. M. Ligand- and heterodimer-directed signaling of the CB<sub>1</sub> cannabinoid receptor // *Mol. Pharmacol.* — 2010. — Vol. 77 (1). — P. 1–9.

453. Di Marzo V., Bisogno T., De Petrocellis L. et al. Biosynthesis and inactivation of the endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol in circulating and tumoral macrophages // *Eur. J. Biochem.* – 1999. – Vol. 264 (1). – P. 258–267.
454. Maccarrone M., De Petrocellis L., Bari M. et al. Lipopolysaccharide down-regulates fatty acid amide hydrolase expression and increases anandamide levels in human peripheral lymphocytes // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2001. – Vol. 393 (2). – P. 321–328.
455. Hoareau L., Buysse M., Festy F. et al. Anti-inflammatory effect of palmitoylethanolamide on human adipocytes // *Obesity.* – 2009. – Vol. 17 (3). – P. 431–438.
456. Rubio M., McHugh D., Fernandez-Ruiz J. et al. Short-term exposure to alcohol in rats affects brain levels of anandamide, other N-acyl ethanolamines and 2-arachidonoylglycerol // *Neurosci. Lett.* – 2007. – Vol. 421 (3). – P. 270–274.
457. Ferrer B., Bermudez-Silva F. J., Bilbao A. et al. Regulation of brain anandamide by acute administration of ethanol // *Biochem. J.* – 2007. – Vol. 404 (1). – P. 97–104.
458. Feuerecker M., Hauer D., Gresset T. et al. Effect of an acute consumption of a moderate amount of ethanol on plasma endocannabinoid levels in humans // *Alcohol Alcohol.* – 2012. – doi: 10.1093/alcalc/agr162.
459. Pennington S. N. Biochemical interactions of ethanol with the arachidonic acid cascade // *Recent Dev Alcohol.* – 1985. – Vol. 3. – P. 123–142.
460. Westcott J. Y., Murphy R. C. The interaction of ethanol and exogenous arachidonic acid in the formation of leukotriens and prostaglandin D2 in mastocytoma cells // *Prostaglandins.* – 1983. – Vol. 26 (2). – P. 223–239.
461. Takamura M. T., Tang A. B., Villanueva J. et al. Reduced tissue arachidonic acid concentration with chronic ethanol feeding in miniature pigs // *Am. J. Clin. Nutr.* – 1992. – Vol. 56 (3). – P. 467–474.
462. Aneetha H., O'Dell D. K., Tan B. et al. Alcohol dehydrogenase-catalyzed *in vitro* oxidation of anandamide to N-arachidonoyl glycine, a lipid mediator: synthesis of N-acyl glycans // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2009. – Vol. 19 (1). – P. 237–241.
463. Bradshaw H. B., Rimmerman N., Hu S. S. et al. The endocannabinoid anandamide is a precursor for the signaling lipid N-arachidonoyl glycine by two distinct pathways *BMC* // *Biochem.* – 2009. – Vol. 10. – P. 14. doi: 10.1186/1471-2091-10-14.
464. Parmar N., Ho W. S. N-arachidonoyl glycine, an endogenous lipid that acts as a vasorelaxant via nitric oxide and large conductance calcium-activated potassium channels // *Br. J. Pharmacol.* – 2010. – Vol. 160 (3). – P. 594–603.
465. Basavarajappa B. S., Saito M., Cooper T. B., Hungund B. L. Activation of arachidonic acid-specific phospholipase A2 in human neuroblastoma cells after chronic alcohol exposure: prevention by GM1 ganglioside // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* – 1997. – Vol. 21 (7). – P. 1199–1203.
466. Basavarajappa B. S., Cooper T. B., Hungund B. L. Effect of chronic ethanol exposure on mouse brain arachidonic acid specific phospholipase A2 // *Biochem. Pharmacol.* – 1988. – Vol. 55 (4). – P. 515–521.
467. Cronholm T., Curstedt T. Decrease in arachidonoyl-containing phosphatidylinositols in pancreas of rats fed an ethanol-containing diet // *Biochem. Pharmacol.* – 1984. – Vol. 33 (7). – P. 1105–1109.
468. Basavarajappa B. S., Saito M., Cooper T. B., Hungund B. L. Chronic ethanol inhibits the anandamide transport and increases extracellular anandamide levels in cerebellar granule neurons // *Eur. J. Pharmacol.* – 2003. – Vol. 466 (1–2). – P. 73–83.

469. *Ortiz S., Oliva J. M., Perez-Rial S. et al.* Chronic ethanol consumption regulates cannabinoid CB1 receptor gene expression in selected regions of rat brain // *Alcohol Alcohol.* – 2004. – Vol. 39 (2). – P. 88–92.

470. *Moranta D., Esteban S., Garca-Sevilla J. A.* Ethanol desensitizes cannabinoid CB1 receptors modulating monoamine synthesis in the rat brain *in vivo* // *Neurosci. Lett.* – 2006. – Vol. 392 (1–2). – P. 58–61.

471. *Cohen C., Perrault G., Voltz C. et al.* SR141716, a central cannabinoid (CB1) receptor antagonist, blocks the motivation and dopamine-releasing effects of nicotine in rats // *Behav. Pharmacol.* – 2002. – Vol. 13 (5–6). – P. 451–463.

472. *Lopez-Moreno J. A., Scherma M., Rodriguez de Fonseca F. et al.* Changed accumbal responsiveness to alcohol in rats pre-treated with nicotine or the cannabinoid receptor agonist WIN 55,212-2 // *Neurosci. Lett.* – 2008. – Vol. 433 (1). – P. 1–5.

473. *Hungund B. L., Szakell I., Adam A. et al.* Cannabinoid CB1 receptor knockout mice exhibit markedly reduced voluntary alcohol consumption and lack alcohol-induced dopamine release in nucleus Accumbens // *J. Neurochem.* – 2003. – Vol. 84 (4). – P. 698–704.

474. *Mailleux P., Vanderhaeghen J. J.* Distribution of neuronal cannabinoid receptor in the adult rat brain: a comparative receptor binding radioautography and *in situ* hybridization histochemistry // *Neurosci.* – 1992. – Vol. 48 (3). – P. 655–668.

475. *Bramnes J. G., Khiabani H. Z., Morland J.* Impairment due to cannabis and ethanol: clinical signs and additive effects // *Addiction.* – 2010. – Vol. 105 (6). – P. 1080–1087.

476. *Ballard M. E., de Wit H.* Combined effects of acute, very-low-dose ethanol and delta (9)-tetrahydrocannabinol in healthy volunteers // *Pharmacol. Biochem. Behav.* – 2011. – Vol. 97 (4). – P. 627–631.

477. *Rinaldi-Carmona M., Barth F., Congy C. et al.* SR147778 [5-(4-bromophenyl)-1-(2,4-dichlorophenyl)-4-ethyl-N-(1-piperidinyl)-1H-pyrazole-3-carboxamide], a new potent and selective antagonist of the CB1 cannabinoid receptor: biochemical and pharmacological characterization // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2004. – Vol. 310 (3). – P. 905–914.

478. *Lallmand F., De Witte P.* SR147778, a CB1 cannabinoid receptor antagonist, suppresses ethanol preference in chronically alcoholized // *Wistar rats Alcohol.* – 2006. – Vol. 39 (3). – P. 125–134.

479. *Maccioni P., Colombo G., Carai M. A.* Blockade of the cannabinoid CB1 receptor and alcohol dependence: preclinical and preliminary clinical data CNS // *Neurol. Disord. Drug Targets.* – 2010. – Vol. 9 (1). – P. 55–59.

480. *Gallate J. E., Saharov T., Mallet P. E., McGregor I. S.* Increased motivation for beer in rats following administration of a cannabinoid CB1 receptor agonist // *Eur. J. Pharmacol.* – 1999. – Vol. 370 (3). – P. 233–240.

481. *Gallate J. E., Mallet P. E., McGregor I. S.* Combined low dose treatment with opioid and cannabinoid receptor antagonists synergistically reduces the motivation to consume alcohol in rats // *Psychopharmacol.* – 2004. – Vol. 173 (1–2). – P. 210–216.

482. *Banafshe H. R., Ghazi-Khansari M., Mehr S. E., Dehpour A. R.* Cyclosporine attenuates the adenylyl cyclase superactivation induced by chronic cannabinoid treatment // *Eur. J. Pharmacol.* – 2007. – Vol. 557 (1). – P. 20–22.

483. *Yoshimura M., Pearson S., Kadota Y., Gonzalez C. E.* Identification of ethanol responsive domains of adenylyl cyclase // *Alcohol Clin. Exp. Res.* – 2006. – Vol. 30 (11). – P. 1824–1832.

484. *Harris R. A., Trudell J. R., Mihic S. J.* Ethanol's molecular // *Targets Sci. Signal.* – 2008. – Vol. 1 (2). – P. 7.
485. *Pandey S. C.* The gene transcription factor cyclic AMP-responsive element binding protein: role in positive and negative affective states of alcohol addiction // *Pharmacol. Ther.* – 2004. – Vol. 104 (1). – P. 47–58.
486. *Tabakoff B., Hoffman P. L., Lee J. M.* et al. Differences in platelet enzyme activity between alcoholics and nonalcoholics // *N. Engl. J. Med.* – 1988. – Vol. 318 (3). – P. 134–139.
487. *Hoffman P. L., Glanz J., Tabakoff B.* Platelet adenylyl cyclase activity as a state or trait marker in alcohol dependence: Results of the WHO/ISBRA Study on State and Trait Markers of Alcohol Use and Dependence // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* – 2002. – Vol. 26 (7). – P. 1078–1087.
488. *Menninger J. A., Baron A. E., Cinigrave K. M.* et al. Platelet adenylyl cyclase activity as a trait marker of alcohol dependence: WHO/ISBRA Collaborative Study Investigators // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* – 2000. – Vol. 24 (6). – P. 810–821.
489. *Hungund B. L., Goldstein D. B., Villegas F., Cooper T. B.* Formation of fatty acid ethyl esters during chronic ethanol treatment in mice // *Biochem. Pharmacol.* – 1988. – Vol. 37 (15). – P. 3001–3004.
490. *Zheng Z., Hungund B.* Effects of acute and chronic ethanol exposure on fatty acid ethyl ester synthases in mouse cerebellar membranes // *Addic. Biol.* – 1998. – Vol. 3 (1). – P. 85–90.
491. *Velesco G., Galve-Roperth I., Sanchez C.* et al. Hypothesis: cannabinoid therapy for the treatment of gliomas? // *Neuropharmacol.* – 2004. – Vol. 47 (3). – P. 315–326.
492. *Torres S., Lorente M., Rodriguez-Fornes F.* et al. A combined preclinical therapy of cannabinoids and temozolomide against glioma // *Mol. Cancer Ther.* – 2011. – Vol. 10 (1). – P. 90–103.
493. *Kusumoto K.* Effects of ethyl-esterization, chain-lengths, unsaturation degrees, and hyperthermia on carcinostatic effect of omega-hydroxylated fatty acids // *Exp. Oncol.* – 2007. – Vol. 29 (2). – P. 106–110.
494. *McClain C. J., Cohen D. A.* Increased tumor necrosis factor production by monocytes in alcoholic patients // *Hepatology.* – 1989. – Vol. 9 (3). – P. 349–351.
495. *Laso F. J., Vaguero J. M., Almeida J.* et al. Production of inflammatory cytokines by peripheral blood monocytes in chronic alcoholism: relationship with ethanol intake and liver disease // *Cytometry. B. Clin. Cytom.* – 2007. – Vol. 72 (5). – P. 408–415.
496. *Gonzales-Reimers E., Garcia-Valdecasas-Campelo E., Santolaria-Fernandez F.* et al. Pro-inflammatory cytokines in stable chronic alcoholics: relationship with fat and lean mass // *Food Chem. Toxicol.* – 2007. – Vol. 45 (6). – P. 906–909.
497. *Qin L., He J., Hanes R. H.* et al. Increased systemic and brain cytokine production and neuroinflammation by endotoxin following ethanol treatment // *J. Neuroinflamm.* – 2008. – Vol. 5. – P. 10.
498. *Sermon F., Le Moine O., Gustot T.* et al. Chronic alcohol exposure sensitizes mice to galactosamine-induced liver injury through enhanced keratinocyte chemoattractant and defective IL-10 production // *J. Hepatol.* – 2003. – Vol. 39 (1). – P. 68–76.
499. *Xu A., Wang Y., Keshaw H.* et al. The fat-derived hormone adiponectin alleviates alcoholic and nonalcoholic fatty liver disease in mice // *J. Clin. Invest.* – 2003. – Vol. 112 (1). – P. 91–100.

500. Gerjevic L. N., Lu S., Chaky J. P., Harrison-Findik D. D. Regulation of heme oxygenase expression by alcohol, hypoxia and oxidative stress World // J. Biol. Chem. – 2011. – Vol. 2 (12). – P. 68-76.
501. Mandal P., Pritchard M. T., Nagy L. E. Anti-inflammatory pathways and alcoholic liver disease: role of an adiponectin/interleukin-10/heme oxygenase-1 pathway // World J. Gastroenterol. 2010. – Vol. 16 (11). – P. 1330-1336.
502. Das S. K., Vasudevan D. M. Alcohol-induced oxidative stress // Life Sci. – 2007. – Vol. 81 (3). – P. 177-187.
503. Cooper R. G., Magwere T. Nitric oxide-mediated pathogenesis during nicotine and alcohol consumption // Indian J. Physiol. Pharmacol. – 2008. – Vol. 52 (1). – P. 11-18.
504. Tivari V., Kuhab A., Chopta K. Suppression of neuro-inflammatory signaling cascade by tocotrienol can prevent chronic alcohol-induced cognitive dysfunction in rats // Behav. Brain Res. – 2009. – Vol. 203 (2). – P. 296-303.
505. Pushpakiran G., Mahalakshmi K., Anuradha C. V. Taurine restores ethanol-induced depletion of antioxidants and attenuates oxidative stress in rat tissues // Amino Acids. – 2004. – Vol. 27 (1). – P. 91-96.
506. Pujar S., Kashinakunti S. V., Gurupadappa K., Manjula R. Serum MDA, antioxidant vitamins and erythrocyte antioxidant enzymes in chronic alcoholic liver disease – a case control study // Al Ameen J. Med. Sci. – 2011. – Vol. 4 (4). – P. 315-322.
507. Bailey S. M., Cunningham C. C. Contribution of mitochondria to oxidative stress associated with alcoholic liver disease // Free Rad. Biol. Med. – 2002. – Vol. 32 (1). – P. 11-16.
508. Bailey S. M. A review of the role of reactive oxygen and nitrogen species in alcohol-induced mitochondrial dysfunction // Free Rad. Res. – 2003. – Vol. 37 (6). – P. 585-596.
509. Young T. A., Bailey S. M., Van Horn C. G., Cunningham C. C. et al. Chronic ethanol consumption decreases mitochondrial and glycolytic production of ATP in liver // Alcohol Alcohol. – 2006. – Vol. 41 (3). – P. 254-260.
510. Zelickson B. R., Benavides G. A., Johnson M. S. et al. Nitric oxide and hypoxia exacerbate alcohol-induced mitochondrial dysfunction in hepatocytes // Biochim. Biophys. Acta. – 2011. – Vol. 1807 (12). – P. 1573-1582.
511. Pfefferbaum A., Rosenbloom M., Crusan K., Jernigan T. L. Brain CT changes in alcoholics: effects of age and alcohol consumption // Alcohol. Clin. Exp. Res. – 1992. – Vol. 16 (6). – P. 1078-1089.
512. Crews F. T., Nixon K. Mechanisms of neurodegeneration and regeneration in alcoholism // Alcohol Alcohol. – 2009. – Vol. 44 (2). – P. 115-127.
513. Gloire G., Legrand-Poels S., Piette J. NF- $\kappa$ B activation by reactive oxygen species: fifteen years later // Biochem. Pharmacol. – 2006. – Vol. 72 (11). – P. 1493-1505.
514. Oliver K. M., Taylor C. T., Cummins E. P. Hypoxia. Regulation of NF- $\kappa$ B signaling during inflammation: the role of hydroxylases // Arthritis Res. Ther. – 2009. – Vol. 11 (1). – P. 215.
515. Fukui H., Brauner B., Bode J. C., Bode C. Plasma endotoxin concentrations in patients with alcoholic and non-alcoholic liver disease: reevaluation with an improved chromogenic assay // J. Hepatol. – 1991. – Vol. 12 (2). – P. 162-169.
516. Wang H. J., Zakhari S., Jung M. K. Alcohol, inflammation, and gut-liver-brain interactions in tissue damage and disease development // World J. Gastroenterol. 2010. – Vol. 16 (11). – P. 1304-1313.

517. *Straub R. H., Weist R., Strauch U. G. et al.* The role of of the sympathetic nervous system in intestinal inflammation // *Gut*. – 2006. – Vol. 55 (11). – P. 1640-1649.

518. *Lyte M., Vulchanova L., Brown D. R.* Stress at the intestinal surface: catecholamines and mucosa-bacteria interactions // *Cell Tissue Res*. – 2011. – Vol. 345 (1). – P. 23-32.

519. *Weick B. G., Ritter S., Ritter R. C.* Plasma catecholamines: exaggerated elevation is associated with stress susceptibility // *Physiol. Behav.* – 1980. – Vol. 24 (5). – P. 869-874.

520. *Dronjak S., Jezova D., Kvetnansky R.* Different effects of novel stressors on sympathoadrenal system activation in rats exposed to long-term immobilization // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2004. – Vol. 1018. – P. 113-123.

521. *Woof J. M., Kerr M. A.* The function of immunoglobulin A in immunity // *J. Pathol.* – 2006. – Vol. 208 (2). – P. 270-282.

522. *Jemmott J. B., McClelland D. C.* Secretory IgA as a measure of resistance to infectious disease: comments on Stone, Cox, Vladimarsdottir, and Neale // *Behav. Med.* – 1989. – Vol. 12 (2). – P. 63-71.

523. *Phillips A. S., Carroll D., Evans P. et al.* Stressful life events are associated with low secretion rates of immunoglobulin A in saliva in the middle aged and elderly // *Brain Behav. Immun.* – 2006. – Vol. 20 (2). – P. 191-197.

524. *Lyte M., Bailey M. T.* Neuroendocrine-bacterial interactions in a neurotoxin-induced model of trauma // *J. Surg. Res.* – 1997. – Vol. 70 (2). – P. 195-201.

525. *Lyte M., Arulanandam B., Nguyen K. et al.* Norepinephrine induced growth and expression of virulence associated factors in enterotoxigenic and enterohemorrhagic strains of *Escherichia coli* // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 1997. – Vol. 412. – P. 331-339.

526. *Lyte M., Ernst S.* Catecholamine induced growth of gram negative bacteria // *Life Sci.* – 1992. – Vol. 50 (3). – P. 203-212.

527. *Belay T., Sonnenfeld G.* Differential effects of catecholamines on *In vivo* growth of the pathogenic bacteria // *Life Sci.* – 2002. – Vol. 71 (4). – P. 447-456.

528. *Freestone P. P., Walton N. J., Haigh R. D., Lyte M.* Influence of dietary catechols on the growth of enteropathogenic bacteria // *Int. J. Food Microbiol.* – 2007. – Vol. 119 (3). – P. 159-169.

529. *Аниховская И. А., Опарина О. Н., Яковлева М. М., Яковлев М. Ю.* Кишечный эндотоксин как универсальный фактор адаптации и патогенеза общего адаптационного синдрома // *Физиол. чел.* – 2006. – Vol. 32 (2). – P. 87-91.

530. *Liu C., Li A., Weng Y. B. et al.* Changes in intestinal mucosal immune barrier in rats with endotoxemia // *World J. Gastroenterol.* – 2009. – Vol. 15 (46). – P. 5843-5850.

531. *Bailey M. T.* The contributing role of the intestinal microbiota in stressor-iduced increases in susceptibility to enteric infection and systemic immunomodulation // *Horm. Behav.* – 2012. – <http://dx.doi.org/10.1016/j.yhbeh.2012.02.006>.

532. *Monje M. L., Toda H., Palmer T. D.* Inflammatory blocade restores adult hippocampal neurogenesis // *Science*. – 2003. – Vol. 302 (5651). – P. 1760-1765.

533. *Qin L., Wu X., Block M. L. et al.* Systemic LPS causes chronic neuroinflammation and progressive neurodegeneration // *Glia*. – 2007. – Vol. 55 (5). – P. 453-462.

534. *Okun E., Griffioen K. J., Lathia J. D. et al.* Toll-like receptors in neurodegeneration // *Brain Res. Rev.* – 2009. – Vol. 59 (2). – P. 278-292.

535. *Harper C.* The neuropathology of alcohol-specific brain damage, or does alcohol damage the brain? // *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* – 1998. – Vol. 57 (2). – P. 101-110.



536. Harper C., Matsumoto I. Ethanol and brain damage // *Curr. Opin. Pharmacol.* – 2005. – Vol. 5 (1)M73–78.
537. Chen S., Charness M. E. Ethanol inhibits neuronal differentiation by disrupting activity-dependent neuroprotective protein signaling // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2008. – Vol. 105 (50). – P. 19962–19967.
538. Takikawa O., Tagawa Y., Iwakura Y. et al. Interferon-gamma-dependent/independent expression of indoleamine 2,3-dioxygenase. Studies with interferon-gamma-knockout mice // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 1999. – Vol. 467. – P. 553–557.
539. Popov A., Abdullah Z., Wickenhauser C. et al. Indoleamine 2,3-dioxygenase-expressing dendritic cells from suppurative granulomas following *Listeria monocytogenes* infection // *J. Clin. Inves.* – 2006. – Vol. 116 (12). – P. 3160–3170.
540. Fujigaki H., Saito K., Fujigaki S. et al. The signal transducer and activator of transcription 1 alpha and interferon regulator factor 1 are not essential for the induction of indoleamine 2,3-dioxygenase by lipopolysaccharide: involvement of p38 mitogen-activated protein kinase and nuclear factor-kappaB pathways, and synergistic effect of several proinflammatory cytokines // *J. Biochem.* – 2006. – Vol. 139 (4). – P. 655–662.
541. Widner B., Laich A., Sperner-Unterweger B. et al. Neopterin production, tryptophan degradation, and mental depression – what is the link? // *Brain Behav. Immun.* – 2002. – Vol. 16 (5). – P. 590–595.
542. Guillemin G. J., Smythe G., Takikawa O., Brew B. J. Expression of indoleamine 2,3-dioxygenase and production of quinolinic acid by human microglia, astrocytes, and neurons // *Glia.* – 2005. – Vol. 49 (1). – P. 15–23.
543. Capuron L., Ravaut A., Neveu P. J. et al. Association between decreased serum tryptophan concentrations and depressive symptoms in cancer patients undergoing cytokine therapy // *Mol. Psychiatry.* – 2002. – Vol. 7 (5). – P. 468–473.
544. Booij L., Van der Does A. J., Riedel W. J. Monoamine depletion in psychiatric and healthy populations: review // *Mol. Psychiatry.* – 2003. – Vol. 8 (12). – P. 951–973.
545. Wichers M. C., Koek G. H., Robaey G. et al. IDO and interferon-alpha-induced depressive symptoms: a shift in hypothesis from tryptophan depletion to neurotoxicity // *Mol. Psychiatry.* – 2005. – Vol. 10 (6). – P. 538–544.
546. O'Conner J. C., Lawson M. A., Andre C. et al. Lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior is mediated by indoleamine 2,3-dioxygenase activation in mice // *Mol. Psychiatry.* – 2009. – Vol. 14 (5). – P. 511–522.
547. Lapin I. P. Kynurenines as probable participants of depression // *Pharmakopsychiatr. Neuropsychopharmacol.* – 1973. – Vol. 6 (6). – P. 273–279.
548. Mangoni A. The «kynurenine shunt» and depression // *Adv. Biochem. Psychopharmacol.* – 1974. – Vol. 10. – P. 293–298.
549. Fukui S., Schwarcz R., Rapoport S. I. et al. Blood-brain barrier transport of kynurenines: implications for brain synthesis and metabolism // *J. Neurochem.* – 1991. – Vol. 56 (6). – P. 2007–2017.
550. Schwarcz R. The kynurenine pathway of tryptophan degradation as a drug target // *Curr. Opin. Pharmacol.* – 2004. – Vol. 4 (1). – P. 12–17.
551. Nemeth H., Toldi J., Vecsei L. Role of kynurenines in the central and peripheral nervous system // *Curr. Neurovasc. Res.* – 2005. – Vol. 2 (3). – P. 249–260.
552. Muller N., Schwarz M. J. The immune-mediated alteration of serotonin and glutamate: towards an integrated view of depression // *Mol. Psychiatry.* – 2007. – Vol. 12 (11). – P. 988–1000.

553. *Badawy A. A., Bano S., Steptoe A.* Tryptophan in alcoholism treatment I: kynurenine metabolites inhibit the rat liver mitochondrial low Km aldehyde dehydrogenase activity, elevate blood acetaldehyde concentration and induce aversion to alcohol // *Alcohol Alcohol.* — 2011. — Vol. 46 (6). — P. 651-660.

554. *Austin J. E., Fraenkel-Conrat H.* Tryptophan analogues form adducts by cooperative reaction with aldehydes and alcohols or with aldehydes alone: possible role in ethanol toxicity // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1992. — Vol. 89 (18). — P. 8439-8442.

555. *Badawy A. A. B.* Tryptophan metabolism in alcoholism // *Nutr. Res. Rev.* — 2002. — Vol. 15 (1). — P. 123-152.

556. *Bercik P., Verdu E. F., Foster J. A.* et al. Chronic gastrointestinal inflammation induces anxiety-like behavior and alters central nervous system biochemistry in mice // *Gastroenterol.* — 2010. — Vol. 139 (6). — P. 2102-2112.

557. *Bercik P., Denou E., Collins J.* et al. The intestinal microbiota affect central levels of brain-derived neurotrophic factor and behavior in mice // *Gastroenterol.* — 2011. — Vol. 141 (2). — P. 599-609.

558. *Kelley K. W., Dantzer R.* Alcohol and inflammation: neuroimmunology of behavioral and mood disorders // *Brain Behav. Immun.* — 2011. — Vol. 25 (1). — P. S13-S20.

559. *Maes M., Lin A., Bosmas E.* et al. Serotonin-immune interactions in detoxified chronic alcoholic patients without apparent liver disease: activation of the inflammatory response system and lower plasma total tryptophan // *Psychiatry Res.* — 1998. — Vol. 78 (3). — P. 151-161.

560. *Fernandez-Checa J. C., Kaplowitz N., Garcia-Ruiz C.* et al. GSH transport in mitochondria: defense against TNF-induced oxidative stress and alcohol-induced defect // *Am. J. Physiol.* — 1997. — Vol. 273 (1 Pt1). — P. G7-G17.

Для заметок

---

**ОКСИДАТИВНЫЙ СТРЕСС И ВОСПАЛЕНИЕ:  
ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ПАРТНЕРСТВО**

**Под редакцией  
О. Г. Хурцилавы, Н. Н. Плужникова,  
Я. А. Накатиса**

Подписано в печать 28.08.2012. Формат бумаги 70×100<sup>1</sup>/<sub>16</sub>.  
Бумага офсетная. Гарнитура Book Antiqua.  
Печать офсетная. Уч.-изд. л. 25,0. Усл. печ. л. 27,625.  
Тираж 500 экз. Заказ №

Санкт-Петербург, Издательство СЗГМУ им. И. И. Мечникова  
191015, Санкт-Петербург, Кирочная ул., д. 41.

Отпечатано в типографии ООО «Бизнес Принт СПб.».