УДК 577.152 :57.042 : 577.121.7

АКТИВНІ ФОРМИ КИСНЮ ТА ЇХ РОЛЬ У МЕТАБОЛІЗМІ КЛІТИН

М. І. Колісник, Г. В. Колісник, Є. Нідзюлка, В. В. Влізло

Інститут біології тварин УААН

В огляді узагальнено сучасні літературні дані стосовно основних шляхів утворення активних форм кисню в організмі тварин і показова їх роль у трансдукції регуляторних сигналів у клітині та активації вільнорадикальних процесів. Активні форми кисню можуть утворюватися у процесі переносу електронів у дихальному ланцюгу мітохондрій, у реакціях, які каталізують оксидази, при мікросомальному та неферментативному окисненні речовин (гемоглобіну, адреналіну, тощо) за наявності іонів металів зі змінною валентністю. Інтенсифікація утворення активних форм кисню приводить до активації пероксидного окиснення ліпідів і окисної модифікації білків, нуклеїнових кислот і вуглеводів. Розглянуто основні механізми окисної модифікації ліпідів та білків, які індукуються підвищеними концентраціями активних форм кисню.

Ключові слова: АКТИВНІ ФОРМИ КИСНЮ, ВТОРИННІ МЕССЕНДЖЕРИ, ПЕРОКСИДНЕ ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ, ОКИСНА МОДИФІКАЦІЯ БІЛКІВ.

У результаті окисно-відновних реакцій в організмі тварин постійно проходить генерація активних форм кисню (АФК: $O_2^{\cdot -}$, O_2^1, OH^-, RO_2, OH_2, H_2O_2 та ін.), які відіграють важливу роль у багатьох фізіологічних і біохімічних процесах: регуляції тонусу судин, клітинній проліферації, синтезі простагландинів, передачі сигналів від міжклітинних сигнальних молекул на регуляторні системи, які контролюють експресію генів, мікробоцидній дії фагоцитів [1, 2]. До АФК належать вільні радикали, продукти неповного відновлення атомарного кисню, а також пероксид водню, синглетний кисень, озон, гіпохлорит, пероксинітрит [3]. Відомо, що 95–98 % кисню у клітинах використовується при окисному фосфорилюванні мітохондріальною цитохромоксидазою, яка каталізує 4-х електронне відновлення кисню до води ($O_2 + 4H^+ + 4e^- \rightarrow 2H_2O$). При цьому відбувається 4 етапи одноелектронного відновлення, внаслідок цього виникають проміжні продукти радикальної природи. У ланцюгу переносу електронів можливе неповне відновлення кисню: у випадку приєднання одного електрону утворюється супероксидний радикал, а двох — пероксид водню. При нормальному перебігу аеробного метаболізму 1–2 % всіх електронів, що пересуваються по мітохондріальному дихальному ланцюгу, використовуються при утворенні супероксид радикалу. Кожна клітина людського організму за нормальних фізіологічних умов продукує 1010 молекул (0,15 моля) супероксиду на добу, або 1,75 кг у рік [4].

У клітинах АФК утворюють оксидази та оксигенази, які використовують 2–5 % спожитого тваринами кисню. Зараз відомо близько тисячі ферментів оксигеназ і біля 1200 генів, які кодують синтез ферментів цього підкласу. Оксигенази беруть участь у синтезі та метаболізмі таких сполук, як стероїдні гормони, жовчні та жирні кислоти, простагландини. Важливою функцією цих ферментів є також детоксикація ксенобіотиків у реакціях мікросомального окиснення за участю цитохрому Р-450. Багато із реакцій цих ферментів супроводжуються утворенням АФК [5, 6].

Сьогодні найбільше вивченою є НАДФН-залежна оксидаза фагоцитуючих клітин крові. До НАДФН-оксидазного комплексу входять зв’язаний з цитоплазматичною

мембраною цитохром p_{558} , який складається з двох білкових субодиниць $p91^{PHOX}$, $p22^{PHOX}$, і три цитоплазматичні білки $p40^{PHOX}$, $p47^{PHOX}$, $p67^{PHOX}$, зв'язування яких з мембраною необхідне для активації ферменту. Активація НАДФН-оксидази відбувається прозапальними цитокінами (IFN-γ, TNF-α, TGF-β, IL-1, 7) і деякими ростовими факторами, під впливом яких відбувається міграція цитозольного комплексу до мембран та зв'язування його з цитохромом p_{558}. За цих умов, у нейтрофілах 90 % кисню відновлюється до $O_2^{\cdot-}$ (так званий кисневий спалах або дихальний вибух). Утворений $O_2^{\cdot-}$ є попередником широкого спектру реакційно здатних оксидантів: окиснених форм галогенів, вільних радикалів, синглетного кисню, які є потужними противірусними, протибактерійними і протипухлинними чинниками [7, 8, 9, 10].

До недавнього часу вважали, що НАДФН-залежна оксидаза є специфічним ферментом фагоцитуючих клітин, що пов'язано з необхідністю захисту від патогенних мікроорганізмів та вірусів. Зараз відомо, що НАДФН-оксидазний комплекс, не зв'язаний з фагоцитом, виявлений у багатьох клітинах: фібробластах, хондроцитах, тромбоцитах, нейронах і астроцитах кори головного мозку, у клітинах всіх трьох шарів аорти, а також у рослин та дріжджів [11, 12]. Особливістю нефагоцитарного НАДФН-оксидазного комплексу є відсутність субодиниці $p91^{PHOX}$ [13].

АФК продукуються і при активації таких ферментів, як NO-синтаза [14], гамма-глутамил-транспептидаза, а також у реакціях самовільного неферментативного окиснення гемоглобіну, ферредоксинів, катехоламінів, у біологічних системах з наявністю іонів металів з перемінною валентністю, передусім феруму [15]. Утворення АФК відбувається і при окисненні арахідонової кислоти у реакціях, які каталізують циклооксигеназа і ліпоксигеназа. Субстратом для цих ферментів є неетерифікована арахідонова кислота, яка утворюється при активації фосфоліпази A_2. При ферментативному окисненні арахідонової кислоти утворюються перекисні та вільнорадикальні ейкозаноїди, які також утворюють АФК. Зовсім недавно показано, що антитіла також здатні продукувати H_2O_2, тобто вони є генераторами АФК у організмі тварин [16].

За нормальних умов концентрація АФК у тканинах є невисокою H_2O_2 - 10^{-8} М, $O_2^{\cdot-}$ - 10^{-11} М, OH^- ‹10^{-11} М. Серед причин, які зумовлюють збільшення продукції АФК, виділяють такі: порушення транспорту електронів у дихальному ланцюгу мітохондрій та електронно-транспортному ланцюгу мікросом, інтенсифікація синтезу і окиснення катехоламінів, посилення деградації аденілових нуклеотидів та активація ксантиноксидази, поява пулу каталітично активних іонів металів змінної валентності (особливо Fe^{2+}), синтез простагландинів з арахідонової кислоти (реакції, які каталізують циклооксигеназа і ліпоксигеназа), активація індуцибельної форми синтази оксиду азоту, посилення активності фагоцитів [17–19]. Під дією екстремальних факторів різного походження (хімічне забруднення, іонізуюче випромінювання, гіпер- і гіпоксія, токсичні речовини, запальні процеси) утворення АФК у живих організмів інтенсифікується [3, 20, 21].

У тварин швидкість генерації АФК корелює із кількістю спожитого кисню і пропорційна до кількості мітохондрій у клітинах. У печінці щура, при фізіологічних концентраціях кисню, 1–4 % від спожитої його кількості перетворюється у АФК внаслідок втрати електронів із мітохондрій [22]. Також було показано, що до 75 % кисню, який поглинають мікросоми, може перетворюватися у АФК [23]. Утворення АФК спостерігається у багатьох клітинних компонентах: мітохондріях, мікросомах, ендоплазматичній та ядерній мембранах, цитоплазмі [24, 25]. Окремі автори вважають, що навіть у спокої 10–15 % всього спожитого тваринами кисню перетворюється у супероксид, а в умовах стресу, коли активність супероксид-генеруючих ферментів різко зростає, інтенсивність одноелекронного відновлення кисню зростає ще на 20 % [26]. Ці вчені вважають, що процес утворення АФК в організмі людини і тварин є фізіологічно запрограмований.

За нормальних фізіологічних умов АФК не нагромаджуються у клітинах. При підвищенні концентрації супероксидний радикал піддається спонтанній або ензиматичній дисмутації з утворенням пероксиду водню. Слід відзначити, що при ензиматичній дисмутації супероксидного радикалу одним із продуктів є молекулярний кисень, а при спонтанній — синглетний кисень [27]. Оскільки молекула пероксиду водню є електронейтральною і має невеликі розміри, то може дифундувати крізь мембрани у будь-які компартменти клітини і трансформуватися у гідроксил-радикали ($H_2O_2 + e^- \rightarrow OH^- + OH^-$) [28]. Донором електронів у цій реакції може бути супероксид-аніон, катіон феруму (II) або відновлена форма іону будь-якого металу зі змінною валентністю. Аналізуючи можливі шляхи утворення гідроксильного радикалу, необхідно відзначити існування ще одного механізму, який базується на взаємодії супероксиду з нітрит-оксидним радикалом, внаслідок чого утворюється пероксинітрит, який після приєднання протону, розщеплюється ($ONOO^- + H^+ \rightarrow ONOOH \rightarrow OH^- + NO_2$) [29].

Будь-яка стресова реакція організму в нормі супроводжується короткочасним збільшенням кількості АФК [30]. Це зумовлено адаптацією організму до екстремальних умов, за яких АФК відіграють роль вторинних мессенджерів, беручи участь у сигнальній трансдукції та активації факторів транскрипції і відповідних генів, зокрема тих, що кодують ферменти антиоксиданти [31–34]. АФК беруть участь у метаболізмі клітин, як вторинні мессенджери при передачі регуляторного сигналу від міжклітинних сигнальних молекул і їх мембранних рецепторів на внутріклітинні регуляторні системи, які контролюють експресію генів [35, 36]. Метаболізм клітин у значній мірі залежить від характеру інформації, яка поступає із навколишнього середовища. Носіями цієї інформації є первинні мессенджери: гормони, цитокіни, нейротрансміттери. У передачу сигналу через клітинну мембрану включаються вторинні мессенджери. Показано, що первинні мессенджери здійснюють регуляцію рівня АФК у клітинах або за рахунок процесів їх генерації, або зниження активності окремих ланок системи антиоксидантного захисту. У цьому процесі активну участь беруть цитокіни, які стимулюють утворення АФК у багатьох типах клітин: фібробластах людини, епітеліальних та ендотеліальних клітинах [37, 38]. З АФК пов’язана передача сигналу від тромбоцитарного фактора росту, епідермального фактора росту, трансформуючого фактора росту β-1, фактора некрозу пухлин (TNF-α) [39, 40]. У мітохондріях клітин утворення АФК зростає під дією TNF-α і IL-1 [41]. Участь інтерлейкіну та інтерферону у сигнальній трансдукції пов’язують з утворенням супероксидного радикалу [1], а TNF-α — з пероксиду водню [32]. Фактор некрозу пухлин через підвищення утворення АМК активує фактори транскрипції NF-kβ і AP-1 [41, 42]. Низькомолекулярні антиоксиданти блокують активацію NF-kβ, яку зумовлює TNF-α [43]. Виявлено, що АФК беруть участь у сигнальній трансдукції, як вторинні мессенджери і у клітинах кісткової тканини. TNF-α, IL-1, паратгормон і вітамін Д стимулюють утворення АФК за рахунок активації в остеобластах НАДФН-оксидази [44].

Ангіотензин II (вазоактивний пептид) впливає на процеси скорочення і ріст гладких м’язів судин через генерацію внутрішньоклітинного $O_2^{\cdot-}$ [45]. Джерелом $O_2^{\cdot-}$, очевидно, є НАДН і нАДИН-оксидази, оскільки обидва ферменти активуються ангіотензином. Інші автори вважають, що H_2O_2 відповідає за ріст гладких м’язів судин, оскільки СОД не впливає на цей процес [46]. Одержані експериментальні дані щодо участі H_2O_2 у сигнальній трансдукції тромбоцитарного фактору росту і трансформуючого фактору росту TGF-β1. Вважають, що H_2O_2 діє через інактивацію протеїнтирозинфосфатаз [47].

АФК впливають на стан Ca^{2+}-каналів, що приводить до звільнення Ca^{2+} з ендотеліальних клітин судин, саркоплазматичного ретикулуму скелетних та серцевого м’язів. Інгібування активності АТФ-залежного Ca^{2+}-насоса саркоплазматичного ретикулуму спричиняє зростання пасивного транспорту Ca^{2+} і зростання його концентрації у цитозолі [48].

Під дією АФК у клітинах проходить активація експресії редокс-чутливих генів, багато з яких необхідні для захисту клітин від токсичної дії окиснювального стресу, зокрема глутатіонпероксидази, хінонредуктази, каталази, супероксиддисмутази, глутатіонредуктази, γ-глутамілцистеїнсинтетази. АФК активують також експресію генів, які відповідають за міжклітинну взаємодію і стан міжклітинного матриксу [36]. Основна регуляторна система, яка контролює експресію генів під дією АФК, представлена в клітині МАР (Mitogen-Activated Protein) — кіназами. АФК активують МАР-кіназный каскад, регулюючи активність транскрипційних факторів NF-kB, AP-1 и ATF-2. Високі концентрації АФК ($NO^{\bullet}$, $OH^{-\bullet}$) можуть гальмувати активність МАР-кіназ [49]. Дія АФК, як сигнальних молекул у метаболізмі тканин, здійснюється за рахунок впливу на різні ланки метаболізму: фосфорилювання білків, проникливість мембран для іонів кальцію, активацію фосфоліпази A_2, регуляцію факторів транскрипції [27, 50].

За певних умов підвищення інтенсивності утворення АФК над швидкістю їх детоксикації може приводити до пошкодження клітин. При вираженому або тривалому стресі концентрація АФК у клітині може підвищуватися і, починаючи з певного порогового рівня цих сполук, мобілізація захисних систем клітини слабшає і активуються процеси, які спричиняють апоптоз або некроз. Окремі автори вважають, що супероксид та пероксид водню рідко спричиняють суттєві функціональні пошкодження у клітинах [2]. Небезпечним є те, що при підвищенні концентрації цих метаболітів кисню утворюється $OH^{\cdot}$, який вважається найсильнішим оксидантом біологічних систем, що пов'язано з малим шляхом переміщення від місця утворення (до 100 нм) та дуже коротким періодом напіврозпаду (10^{-9} с), тоді як для супероксиду він становить 10^{-6}, а для синглетного кисню 10^{2} с [51]. Гідроксил-радикал є визначальним фактором токсичної дії кисню. Взаємодія ОН з біомолекулами призводить до окиснювальної модифікації багатьох клітинних структур, білків, ліпідів, нуклеїнових кислот [52].

Одним із проявів токсичної дії метаболітів кисню є інтенсифікація реакцій вільнорадикального окиснення. Вільнорадикальне окиснення є універсальним механізмом, за допомогою якого контролюються найважливіші гомеостатичні фізико-хімічні параметри клітини: в'язкість, вибіркова проникність і цілісність клітинних мембран [53]. За участю вільних радикалів відбувається детоксикація чужорідних сполук, що надходять в організм. Радикали й продукти вільнорадикального окиснення впливають на імунітет, структуру й функцію біологічних мембран, акумуляцію й біотрансформацію енергії. Не викликає сумніву, що наявність вільних радикалів в організмі має певне фізіологічне значення [4]. Протікання багатьох біологічних процесів неможливе без вільних радикалів. Утворення O_2^{-} та інших активних кисневих форм забезпечує цитотоксичну дію фагоцитів, регуляцію процесу поділу клітин, попередження злоякісної трансформації клітин, модуляцію «програмованої» загибелі клітин (апоптозу), ротацію білкового й ліпідного компонентів біомембран, синтезу ряду біологічно активних речовин (простагландинів, простациклінів, катехоламінів, стероїдів, тромбоксанів, лейкотриєнів тощо) [54, 55]. Відомо, що вільні радикали відіграють важливу роль у транспорті електронів у дихальному ланцюзі, індукції утворення пор у мітохондріальній мембрані, окисному фосфорилюванні. Окисні процеси за участю активованих кисневих метаболітів — невід'ємна умова існування живих організмів. Вони виконують функцію між- і внутрішньоклітинних мессенджерів, модуляторів та індукторів у біохімічній регуляції й реалізації метаболічних процесів, є найпершою і найбільш мобільною ланкою в адаптаційній перебудові організму при екстремальних впливах [56].

Інтенсифікація процесів вільнорадикального окиснення під дією АФК приводить до посилення пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), окисної модифікації білків (ОМБ), деструкції нуклеїнових кислот, вуглеводів, що спричиняє структурні та метаболічні порушення у клітинах. Ініціатором цього процесу у більшості випадків виступає $OH^{\cdot}$, який

здатний забирати атом водню від органічних сполук з утворенням органічного вільного радикалу ($RH+OH^{-}\rightarrow R^{-}+H_2O$) [2].

Однією з основних причин пошкодження і загибелі клітини внаслідок дії АФК на сьогодні вважається пероксидне окиснення ліпідів [57]. Цим шляхом окиснюються ненасичені жирні кислоти, що може бути причиною порушення цілісності та властивостей біологічних мембран. Найбільш важливими біомаркерами окиснення поліненасичених жирних кислот є коротколанцюгові алкани і алкени, а також алканалі, 2,4-алкадіеналі, алкатріеналі, гідроксіалкеналі, 4-гідроксіалкеналі та їх пероксиди, малоновий діальдегід, нормальні аліфатичні кетони та ізопростани [58, 59].

ПОЛ — це ланцюгова реакція, яка ініціюється гідроксил-радикалом, синглетним киснем і каталізується іонами перехідних металів. Основні реакції ПОЛ наступні:

НЖК–Н + R• → НЖК• + RH (1)

НЖК• + O2 → НЖК–ОО• (2)

НЖК–ОО• + НЖК–Н → НЖК–ООН + НЖК• (3)

Fe^{2+} + НЖК–ООН → Fe^{3+} + НЖК–О• + ОН– (4)

Fe^{3+} + НЖК–ООН → Fe^{2+} + НЖК–ОО•+ H^{+} (5).

Таким чином, ПОЛ починається з вибивання радикалом (гідроксил-радикалом, радикалом жирної кислоти або іншим радикалом) атома водню з метиленової групи ненасиченої жирної кислоти (реакція 1). Утворений радикал жирної кислоти реагує з молекулою кисню, перетворюючись на пероксид-радикал (реакція 2). Пероксидний радикал може віднімати водень від іншої молекули жирної кислоти і відновлюватися до гідроперекису (реакція 3). Утворений радикал вступає в реакцію і виникає ланцюгова реакція, яка може продовжуватися уже без ініціюючих речовин. У поширенні ланцюгової реакції беруть участь іони феруму та інших перехідних металів (реакції 4, 5) [57]. Пероксиди ліпідів, які виникають, краще розчиняються у рідині, ніж поліненасичені жирні кислоти, тому легше вимиваються з мембран, що сприяє самооновленню мембранних структур. Пероксиди жирних кислот нестабільні, в результаті розриву вуглець-вуглецевого зв'язку вони розпадаються з утворенням високотоксичних альдегідів 4-гідрокси-2-алкеналів, 4,5-епокси-2-алкеналів, які пошкоджують біомолекули клітини. На відміну від вільних радикалів, альдегіди є стабільними сполуками, здатними дифундувати на великі відстані. В основі ушкоджуючої дії ендогенних альдегідів є їхня властивість викликати ковалентну модифікацію макромолекул і, як наслідок, змінювати структуру біологічних мембран [60, 61], пригнічувати активність гліколізу й окиснювального фосфорилювання, синтез білків і нуклеїнових кислот. Цитотоксичні властивості альдегідів пов'язані з їх високою реакційною здатністю через електрофільність їхніх карбонільних груп. ПОЛ ендоплазматичного і саркоплазматичного ретикулума може спричиняти неконтрольований вихід Ca^{2+} у цитоплазму, внаслідок чого порушується внутрішньоклітинне проведення сигналів, змінюється робота ферментних систем, тощо [3]. Однак ПОЛ не є виключно деструктивним процесом. Пероксидне окиснення ліпідів має важливе значення для оновлення біологічних мембран, ротації їх білкового й ліпідного компонентів, регуляції фізико-хімічних властивостей мембран клітин і субклітинних структур [57]. Пероксиди ліпідів і низькомолекулярні продукти деградації окиснених ліпідів можуть брати участь у сигнальній трансдукції, які визначають можливість виживання клітини, або її загибель у стресових ситуаціях [62].

Білкові молекули також є мішенями для атаки АФК, що призводить до зміни їх вторинної та третинної структури, агрегації та фрагментації [63, 64]. У зв'язку з особливостями хімічної будови і структурної організації протеїнів процес ОМБ має складний характер, що пов'язано з утворенням великої кількості окиснених продуктів радикальної та нерадикальної природи. Першим етапом ОМБ є відщеплення водню від ά-вуглецевого атому поліпептидного ланцюга з утворенням карбонільного радикалу, який швидко взаємодіє з O_2 з

утворенням алкілпероксирадикальної проміжної сполуки. Ця сполука може переходити у алкоксирадикал, який перетворюється у гідроксилпохідне протеїну. Вважають, що вільнорадикальне пошкодження протеїнів має таку ж ланцюгову природу, як і окиснення ліпідів. Запропонований наступний механізм утворення гідропероксидів білків під дією АФК [65]:

Пр + НО·→ Пр·+ Н2О;

Пр·+ О2 → ПрОО·;

ПрОО·+ е– → ПрОО–;

ПрОО– +Н·→ ПрООН;

ПрОО + ПрН → ПрООН + Пр·.

Біологічна роль протеїнових радикалів не з'ясована, але здатність їх окиснювати інші біомолекули засвідчує їх важливу роль в окиснювальному пошкодженні біологічних систем та їх прооксидантну дію [66]. З іншої сторони, здатність протеїнів реагувати з радикальними сполуками розглядають, як прояв антиоксидантних властивостей [67]. Встановлено, що протеїнові радикали є важливою проміжною ланкою при окиснювальному пошкодженні ліпопротеїдів низької щільності [68]. Показано, що утворені протеїнові радикали можуть нейтралізуватися низькомолекулярними компонентами системи антиоксидантного захисту, зокрема уратами та каротиноїдами [69].

Головними мішенями АФК є цистеїнові, гістидинові, тирозинові, фенілаланінові, триптофанові та метіонінові залишки. $OH^{\cdot}$ і $O_2^{\cdot -}$ можуть взаємодіяти не тільки з амінокислотними залишками, але і окиснювати скелет поліпептидного ланцюга з наступною фрагментацією. Ступінь пошкодження молекули білка визначається амінокислотним складом та структурною організацією і доступністю амінокиснотних залишків для радикальних продуктів [31, 70]. Залежно від хімічної будови АФК ступінь ОМБ може бути різним: $OH^{\cdot}$ здебільшого викликає агрегацію білків, а у комбінації з $O_2^{\cdot -}$ — фрагментацію. У першому випадку утворюються агрегати за рахунок міжмолекулярних ковалентних зв'язків, в утворенні яких бере участь тирозин. При фрагментації білка руйнуються пептидні зв'язки [71]. Взаємодія АФК з металоферментами супроводжується окисненням активних центрів та інактивацією останніх [72, 73]. Продукти ПОЛ також можуть індукувати фрагментацію або зшивки білкових молекул [71, 74]. Дія АФК на білки може спричиняти утворення ковалентних зв'язків як безпосередньо у молекулі, так і між сусідніми молекулами [31, 75]. Показано, що конформаційні зміни у структурі молекул білків, які відбуваються при їх взаємодії з АФК, збільшують доступність пептидних зв'язків для дії протеїназ [62, 76]. АФК можуть впливати на процеси внутрішньоклітинної деградації білків не лише шляхом модифікації структури молекул білків, але й шляхом зміни рівноваги між протеазами та їх інгібіторами. Наприклад, при взаємодії з вільними радикалами інактивуються інгібітори протеаз α_1-антитрипсин та α_2-макроглобулін [77, 78].

Процес окиснення протеїнів постійно відбувається у тканинах організму. Нагромадження окиснених протеїнів розглядають як один із факторів регуляції синтезу і розпаду протеїнів. Руйнування окиснених протеїнів розглядають як прояв певної захисної ланки системи антиоксидантного захисту [79]. Показано, що протеази володіють високою чутливістю до окиснених протеїнів. Такий селективний протеоліз запобігає нагромадженню окиснених білків у клітині. Особливо активно від окиснених протеїнів захищаються ядра клітин, де наявний високий рівень протеасом [80]. При високому ступені окиснення протеоліз білків знижується через утворення міжмолекулярних зшивок, зниження розчинності та агрегацію. Такі агрегати акумулюються у клітинах у вигляді агресом, що пов'язано з патологією. Інтенсифікація деградації окиснених протеїнів є важливою функцією внутрішньоклітинної протеолітичної системи, а нездатність до руйнування окиснених протеїнів пов'язана з процесами старіння і різними патологічними станами [81]. Показано [82], що зниження протеолітичної активності у Т-лімфоцитах пов'язано зі

зниженням активності фактора транскрипції NF-kB, що спричиняє їх дисфункцію. Порушення збалансованості між інтенсивністю ОМБ і їх протеолізом та синтезом протеїнів de novo є одним із важливих маркерів пошкодження тканин. Вважають, що при патологічних станах протеїни, а не ліпіди чи нуклеїнові кислоти першочергово окиснюються АФК, а ОМБ є одним із ранніх і найбільш надійних маркерів ураження тканин за вільнорадикальної патології [83].

Найважливішим аспектом дії АФК, з огляду на біологічний ефект, є їхня взаємодія з ДНК. Ідентифіковано близько 100 варіантів ушкодження ДНК вільними радикалами та модифікацій пентоз і азотистих основ [84]. Показано, що мітохондріальна ДНК пошкоджується у 10^4 раз частіше, ніж ядерна. Це, очевидно, зумовлено тим, що більша частина АФК у клітині утворюється у мітохондріях [85].

Фізіологічний рівень і швидкість генерації АФК у клітинах підтримуються на постійному рівні завдяки існуванню багаторівневої антиоксидантної системи захисту. Підвищення концентрації АФК внаслідок зміщення рівноваги між процесами їхнього утворення та детоксикації є передумовою порушення функціональної активності клітин та розвитку патологічних процесів.

Перспективи подальших досліджень. Доцільно вивчити роль активних форм кисню у розвитку оксидативних стресів у тварин та способи їх знешкодження.

M. Kolisnyk, H. Colisnic, J. Niedziolka, V. Vlizlo

OXYGEN ACTIVE FORMS THAT THEIR ROLE IN CELLS METABOLISM

S u m m a r y

Generalized modern literary data concerning basic ways of active oxygen forms formation in the organism of animals and their role at transduction of regulatory signals in the cell and activating of free radical processes are given in this article.
The active forms of oxygen can appear in the process of electrons transfer in respiratory chain of mitohondrion, in the reactions which are catalised by oxidase, at microsom and non-enzyme oxidation of substanses (haemoglobin, adrenalin etc.) at presence of ions of metals with variable valency. Intensification of formation of oxygen active forms leads to lipid peroxidation activation and oxidizing modification of albumens, nucleic acids and carbohydrates. The basic machineries of oxidizing modification of lipids and albumens which are induced by the promoted concentrations of active forms of oxygen are considered in this article.

М. И. Колиснык, А.В.Колиснык, Е. Нидзюлка, В. В. Влизло

АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА И ИХ РОЛЬ В МЕТАБОЛИЗМЕ КЛЕТОК

А н н о т а ц и я

В обзоре обобщены современные данные литературы об основных путях образования активных форм кислорода в организме животных и показана их роль у трансдукции регуляторных сигналов в клетке и активации свободнорадикальных процессов. Образование активных форм кислорода может происходить в процессе переноса электронов в дыхательной цепи митохондрий, в реакциях, катализирующих оксидазами и микросомального окисления, при неферментативном окислении веществ (гемоглобина, адреналина и др.), при наличии ионов металлов с переменной валентностью. Чрезмерное образование активных форм кислорода приводит к активации перекисного окисления липидов и окисной модификации белков, нуклеиновых кислот и углеводов. Освещены основные механизмы перекисного окисления липидов и окисной модификации белков.

1. *Зенков Н. К.* Активированные кислородные метаболиты в биологических системах / Н. К. Зенков, Е. Б. Меншикова // Усп. совр. биол. — 1993. — Т. 113, № 3. — С. 286–296.

2. *Шаповал Г. С.* Механизмы антиоксидантной защиты организма при действии активных форм кислорода / Г. С. Шаповал, В. Ф. Громовая // Укр. біохім. журн. — 2003. — Т. 75, № 2. — С. 5–13.

3. *Владимиров Ю. А.* Свободные радикалы в биологических системах / Ю. А. Владимиров // Сорос. обр. журн. — 2000. — № 12. — С. 13–19. Режим доступу до журн. http://www.pereplet.ru/obrazovanie/stsoros/1126.html

4. *Болдырев А. А.* Биомембранология / А. А. Болдырев, Е. И. Кяйвяряйнен, В. А. Шлюха // Петрозаводськ : Изд-во Кар. НЦРАН, 2006. — 226 с.

5. *Ляхович В. В.* Активированные кислородные метаболиты в монооксигеназных реакциях / В. В. Ляхович, В. А. Вавилин, Н. К. Зенков // Бюлл. СО РАМН. — 2005. — Т. 118, № 4. — С. 7–12.

6. Constitutive and inducible cytochromes P450 in rat lung mitochondria: xenobiotic induction, relative abundance, and catalytic properties / S. V. Bhagwat, J. Mullick, H. Raza et al. // Toxicol. Appl. Pharmacol. — 1999. — V. 156, No. 3. — P. 231–240.

7. *Babior B. M.* NADPH Oxidase : An Update / B. M. Babior // Blood. — 1999. — Vol. 93, No. 5. — P. 1464–1476.

8. *Li J.* Purified leukocyte cytochrome b558 incorporated into liposomes catalyzes a cytosolic factor dependent diaphorase activity / J. Li, R. J. Guillory // Biochemistry. — 1997. — Vol. 36, No. 18. — P. 5529–5537.

9. The cytosolic subunit p67phox contains an NADPH-binding site that participates in catalysis by the leukocyte NADPH oxidase / R. M. Smith, J. A. Connor, L. M. Chen [et al.] // J. Clin. Invest. — 1996. — Vol. 98, No. 4. — P. 977–983.

10. Tumour necrosis factor alpha activates a p22phox-based NADH oxidase in vascular smooth muscle / G. W. Keulenaer, R. W. Alexander, M. Ushio-Fukai et al. // Biochem. J. — 1998. — Vol. 329, No. Pt 3. — P. 653–657.

11. *Emmendörffer A.* Production of Oxygen Radicals By Fibroblasts and Neutrophils from a Patient with X-Linked Chronic Granulomatous Disease / A. Emmendörffer // Eur. J. Haematol. — 1993. — Vol. 51, No. 1. — P. 223–227.

12. *Pagano P. J.* Localization of a Constitutively Active, Phagocyte-like NADPH Oxidase in Rabbit Aortic Adventitia : Enhancement by Angiotensin II / P. J. Pagano // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1997. — Vol. 94, No. 26. — P. 14483–14488.

13. *Geiszt M.* Identification of Renox, an NAD(P)H Oxidase in Kidney / Geiszt M. // PNAS. — 2000. — Vol. 97, No. 14. — P. 8010–8014.

14. *Болдырев А. А.* Окислительный стресс и мозг / А. А. Болдырев // Сорос. обр. журн. — 2001. — № 4. — С. 21–28.

15. *Гуніна Л. М.* Оксидативний стрес і його роль в канцерогенезі / Л. М. Гуніна, С. А. Олійник // Фізіол. журн. — 2006. — Т. 52, № 4. — С. 78–89.

16. *Wentworth P.* Antibody design by man and nature / P. Wentworth // Science. — 2002. — Vol. 296. — P. 2247–2249.

17. *Кулинский В. И.* Активные формы кислорода и оксидативная модификация макромолекул : польза, вред, защита / В. И. Кулинский // Сорос. обр. журн. — 1997. — № 1. — С. 2–7.

18. *Fruehauf J. P.* Reactive Oxygen Species: A Breath of Life or Death? / P. J. Fruehauf, L. F. Meyskens // Clin. Cancer Res. — 2007. — Vol. 13, No. 1. — P. 789–794.

19. *Haila K.* Effects of carotenoids and carotenoid-tocopherol interaction on lipid oxidation i*n vitro* / K. Haila // Dissertation. — 1999. — EKT series 1165. — Univ. of Helsinki, Finland. Electronic versions available at: http://ethesis.helsinki.fi/julkaisut/maa/skemi/vk/haila/

20. *Воробець Н. М.* Утворення малонового діальдегіду та пероксиду водню при вирощуванні соняшника на поживних середовищах з різною концентрацією іонів свинцю // Науковий вісник Чернівецького нац. ун-ту. — 2004. — Вип. 194. — С. 9–15.

21. Cytotoxicity of 1,2-diacetylbenzene in human neuroblastoma SHSY5Y cells is mediated by oxidative stress / M. S. Kim, M. K. Kim, K. S. Kim et al. // Toxicology. — 2008. — Vol. 243, No. 1–2. — P. 216–223.

22. Shigenaga M. K. Oxidative Damage and Mitochondrial Decay in Aging / M. K. Shigenaga, T. M. Hagen, B. N. Ames // Proc. Nat. Acad. Sci. — 1994. — Vol. 91, No. 23. — P. 10771–10778.

23. *Вартанян Л. С.* Мембраны субклеточных органелл как источник супероксидных радикалов при ишемии печени / Л. С. Вартанян // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1990. — № 6. — С. 550–552.

24. *Fridovich I.* Superoxide radical and superoxide dismutases / I. Fridovich // Annu Rev. Biochem. — 1995. — Vol. 64. — P. 97–112.

25. *Lander H. M.* An essential role for free radicals and derived species in signal transduction / H. M. Lander // FASEB J. — 1997. — Vol. 11, No. 2. — P. 118–124.

26. *Воейков В. Л.* Благотворная роль активніх форм кислорода / В. Л. Воейков // Рос. ж. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. — 2001. — Т. 11, № 4. — С. 128–135.

27. Утворення активних форм кисню та система антиоксидантного захисту в організмі тварин / Г. Л. Антоняк, Н. О. Бабич, Л. І. Сологуб та ін. // Біологія тварин. — 2000. — Т. 2, № 2. — С. 34–43.

28. *Семчишин Г. М.* Оксидативний стрес і регуляція активності каталаз у *Escherichia coli* / Г. М. Семчишин, В. І. Лущак // Укр. біохім. журн. — 2004. — Т. 76, № 2. — С. 31–41.

29. Free radicals and phagocytic cells / G. M. Rosen, S. Pou, C. L. Ramos et al. // FASEB J. — 1995. — Vol. 9, No. 2. — P. 200–209.

30. *Саприн А. Н.* Окислительный стресс и его роль в механизмах апоптоза и развития патологических процессов / А. Н. Саприн, Е. В. Калинина // Усп. биол. хим. — 1999. — Т. 39. — С. 289–326.

31. *Дубиніна О. Ю.* Окиснювальний стрес і окиснювальна модифікація білків / О. Ю. Дубиніна // Мед. хім. — 2001. — Т. 3, № 2. — С. 5–12.

32. Изменение экспрессии генов антиоксидантных ферментов, гемоксигеназы-1, bcl-2, bcl-xl и уровня активных форм кислорода при формировании резистентности опухолевых клеток к доксорубицину / Е. В. Калинина, Н. Н. Чернов, А. Н. Саприн та ін. // Биохимия. — 2006. — Т. 71, вып. 11. — С. 1475–1487.

33. *Ляхович В. В.* Активная защита при окислительном стрессе. Антиоксидант-респонсивный элемент / В. В. Ляхович, В. А. Вавилин, Н. К. Зенков // Биохимия. — 2006. — Т. 71, вып. 9. — С. 1183–1197.

34. *Семчишин Г.* Участие регулона soxRS в ответе *Esherichia coli* на окислительный стресс, индуцированный перекисью водорода / Г. Семчишин, Т. Багнюкова, В. Лущак // Биохимия. — 2005. — Т. 70, вып. 11. — С. 1506–1513.

35. *Октябрьский О. Н.* Редокс-регуляция клеточных функций / О. Н. Октябрьский, Г. В. Смирнова // Биохимия. — 2007. — Т. 72, вып. 2. — С. 158–174.

36. *Турпаев К. Т.* Активные формы кислорода и регуляция экспресии генов / К. Т. Турпаев // Биохимия. — 2002. — 67, вып. 3. — С. 339–352.

37. *Дубинина Е. Е.* Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состоянии окислительного стресса / Е. Е. Дубинина // Вопросы мед. хим. — 2001. — Т. 47, № 6. — С. 561–581.

38. *Kim B.* Effects of reactive oxygen species on proliferation of chinese hamster lung fibroblast (V 79) cells / B. Kim, M. Han, A. S. Chung // Free Radic. Biol. Med. — 2001. — Vol. 30, No. 6. — P. 686–698.

39. c-Src and Hydrogen Peroxide Mediate Transforming Growth Factor-ß1–Induced Smooth Muscle Cell / M. Sato, K. Kawai-Kowase, H. Sato et al. // Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology. — 2005. — Vol. 25, No. 2. — P. 341–347.

40. Epidermal growth factor (EGF)-induced generation of hydrogen peroxide. Role in EGF receptor-mediated tyrosine phosphorylation / Y. S. Bae, S. W. Kang, M. S. Seo et al. // J. Biol. Chem. — 1997. — Vol. 272, No. 1. — P. 217–221.

41. *Raha S.* Mitochondria, oxygen free radicals, disease and ageing / S. Raha, B. H. Robinson // Trends Biochem. Sci. — 2000. — Vol. 25, No. 10. — P. 502–508.

42. *Lo Y. Y.* Involvement of reactive oxygen species in cytokine and growth factor induction of C-fos expression of chondrocytes / Y. Y. Lo, T. F. Cruz // J. Biol. Chem. — 1995. — 270, № 2. — P. 11727–11730.

43. *Schreck R.* Nuclear factor kappa B: an oxidative stress-responsive transcription factor of eukaryotic cells (a review) / R. Schreck, K. Albermann, P. A. Baeuerle // Free Radic. Res. Commun. — 1992. — Vol. 17, No. 4. — P. 221–237.

44. *Steinbeck M. J.* NADPH-oxidase expression and in situ production of superoxide by osteoclasts actively resorbing bone / M. J. Steinbeck, W. H. Appel, A. J. Verhoeven, M. J. Karnovsky // J. Cell Biol. — 1994. — Vol. 126, No. 2. — P. 765–772.

45. *Griendling K. K.* Angiotensin II stimulates NADH and NADPH oxidase activity in cultured vascular smooth cells / K. K. Griendling, C. A. Minieri, J. D. Ollerenshaw, R. W. Alexander // Circ. Res. — 1994. — Vol. 74, No. 2. — P. 1141–1148.

46. *Rao G. N.* Active oxygen species stimulate vascular smooth muscle cell growth and proto-oncogene expression / G. N. Rao, B. C. Berk // Circ. Res. — 1992. — Vol. 70, No. 1. — P. 593–599.

47. *Lee S. R.* Reversible inactivation of protein-tyrosine phosphatase 1B in A431 cells stimulated with epidermal growth factor / S. R. Lee, K. S. Yang, J. Kwon, S. G. Rhee // J. Biol. Chem . — 1998. — Vol. 273, No. 11. — P. 15366–15372.

48. *Doan T. N.* Hydrogen peroxide activates agonist-sensitive Ca(2+)-flux pathways in canine venous endothelial cells / T. N. Doan, D. L. Gentry, A. A. Taylor, S. J. Elliott // Biochem. J. — 1994. — Vol. 297, No. 1. — P. 209–215.

49. *Rincon V.* The JNK and P 38 MAP kinase signaling pathways in cell-mediated immune responses / V. Rincon, R. A. Flavell, R. A. Davis // Free Radic. Biol. Med. — 2000. — Vol. 28, No. 1. — P. 1328–1337.

50. *Мишуніна Т. М.* Вплив антиоксидантів на міжнуклеосомну фрагментацію ДНК у тканині щитоподібної залози хворих із різною тиреоїдною патологією / Т. М. Мишуніна, О. В. Калініченко, Л. І. Пількевич // Укр. біохім. журн. — 2007. — Т. 79, № 5. — С. 186–195.

51. *Yu B. P.* Cellular defenses against damage from reactive oxygen species / B. P. Yu // Physiol. Rev. — 1994. — Vol. 74, No. 1. — P. 139–162.

52. *Suzuki Y. J.* Mathematical model supporting the superoxide theory of oxygen toxicity / Y. J. Suzuki, G. D. Ford // Free Rad. Biol. Med. — 1994. — Vol. 16, No. 1. — P. 63–72.

53. *Коршун М. М.* Закономірності вільнорадикального окислення та енергетичного обміну в життєвоважливих органах експериментальних тварин при тривалій поєднаній дії малих доз іонізуючої радіації та хімічних забруднювачів ґрунту / М. М. Коршун, Н. А. Колесова, І. І. Ткаченко, В. І. Литвиненко // Совр. проблемы токсикол. — 2001. — № 1. — С. 32–38.

54. *Gamaley I. A.* Roles of reactive oxygen species: signaling and regulation of cellular function / I. A. Gamaley, I. V. Klyubin // Int. Rev. Cytol. — 1999. — Vol. 188, No. 1. — P. 203–255

55. *Тимочко М. Ф.* Вільнорадикальні реакції та їх метаболічна роль / М. Ф. Тимочко, Л. І. Кобилінська // Медична хімія. — 1999. — Т. 1, № 1. — С. 19–25.

56. *Владимиров Ю. А.* Свободные радикалы и антиоксиданты / Ю. А. Владимиров // Вестник РАМН. — 1998. — № 7. — С. 43–51.

57. *Лущак В. І.* Показники оксидативного стресу. 2. Пероксиди ліпідів / В. І. Лущак, Т. В. Багнюкова, Л. І. Лужна // Укр. біохім. журн. — 2006. — Т. 78, № 5. — С. 113–119.

58. *Барабой В. А.* Роль перекисного окисления в механизме стресса / В. А. Барабой // Физиологический журнал. — 1989. — Т. 35, № 5. — С. 83–97.

59. *Гончарук Є. Г.* Вільнорадикальне окислення як універсальний неспецифічний механізм пошкоджуючої дії шкідливих чинників довкілля / Є. Г. Гончарук, М. М. Коршун // Журнал АМН України. — 2004. — Т. 10, № 1. — С. 131–150.

60. *Владимиров Ю. А*. Механизмы перекисного окисления липидов и его действие на биологические мембраны / Ю. А. Владимиров, И. И. Оленев, Т. Б. Суслова, А. Я. Потапенко // Биофизика. Итоги науки и техники (ВИНИТИ) АН СССР. М. — 1975. — Т. 5. — С. 56–117.

61. Роль процессов свободнорадикального окисления в патогенезе инфекционных болезней / А. П. Шепелев, И. В. Корниенко, А. В. Шестопалов та ін. // Вопросы мед. химии. — 2000. — № 2. — Режим доступу до журн. : http://medi.ru/pbmc/8800202.htm.

62. *Тарчевский И. А*. Регуляторная роль деградации биополимеров и липидов / И. А. Тарчевский // Физиол. растений. — 1992. — Т. 39, № 6. — С. 1215–1223.

63. *Davies K. J. A.* Protein damage and degradation by oxygen radicals. II. Modification of amino acids / K. J. A. Davies, M. E. Delsignore, S. W. Lin // J. Biol. Chem. — 1987. — Vol. 262, No. 20. — P. 9902–9907

64. Quantification of malondialdehyde and 4-hydroxynonenal adducts to lysine residues in native and oxidized human low-density lipoprotein / J. R. Requena, M. X. Fu, M. U. Ahmed et al. // Biochem. J. — 1997. — Vol. 322, No. 1. — P. 317–325.

65. *Gebicki S.* Crosslinking of DNA and proteins induced by protein hydroperoxides / S. Gebicki, M. Gebicki // Biochem J. — 1999. — Vol. 338, No. 3. — P. 629–636.

66. *Дубініна О. Ю.* Окислювальна модифікація протеїнів, її роль за патологічних станів / О. Ю. Дубініна, А. В. Пустигіна // Укр. біохім. журн. — 2008. — Т. 80, № 6. — С. 5–18.

67. *Чеснокова Н. П.* Молекулярно-клеточые мехвнизмы инактивации свободных роадикалов в биологических системах / Н. П. Чеснокова, Е. В. Понукалина, М. Н. Бизенкова // Усп. совр. естествознания. — 2006. — № 7. — С. 29–35.

68. *Hawkins C. L.* Hypochlorite-induced damage to proteins: formation of nitrogen-centred radicals from lysine residues and their role in protein fragmentation / C. L. Hawkins, M. J. Davies // Biochem. J. — 1998. — Vol. 332, No. 1. — P. 617–625.

69. *Kittridge K. J.* Uric acid substantially enhances the free radical-induced inactivation of alcohol dehydrogenase / K. J. Kittridge, R. L. Willson // FEBS Lett. — 1984. — Vol. 170, No. 1. — P. 162–164.

70. *Shacter E. Y.* Quantification and significance of protein oxidation in biological samples / E. Y. Shacter. // Drug metabolism reviews. — 2000. — Vol. 32, No. 3&4. — P. 307–326.

71. *Мещишен І. Ф*. Механізм окислювальної модифікації білків / І. Ф. Мещишен, В. П. Польовий // Буковинський мед. вісник. — 1999. — Т. 3, № 1. — С. 197–205.

72. *Cabiscol E.* Metal-catalyzed oxidation of Fe2+ dehydrogenases. Consensus target sequence between propanediol oxidoreductase of Escherichia coli and alcohol dehydrogenase II of Zymomonas mobilis / E. Cabiscol // J. Biol. Chem. — 1994. — Vol. 269, No. 9. — P. 6592–6597.

73. Differential inactivation of alcohol dehydrogenase isoenzymes in *Zymomonas mobilis* by oxygen / J. Tamarit, E. Cabiscol, J. Aguilar et al. // J. Bacteriol. — 1997. — Vol. 179, No. 4. — P. 1102–1104.

74. *Hartley D. P.* Prooxidant-initiated lipid peroxidation in isolated rat hepatocytes: Detection of 4-hydroxynonenal- and malondialdehyde-protein adducts / D. P. Hartley, D. J. Kroll, D. R. Petersen // Chem. Res. Toxicol. — 1997. — Vol. 10, No. 8. — P. 895–905.

75. *Beckman J. S.* Oxidative damage and tyrosine nitration from peroxynitrite / J. S. Beckman // Chem. Res. Toxicol. — 1996. — Vol. 9, No. 5. — P. 836–844.

76. *Rivett A. J.* High molecular mass intracellular proteases / A. J. Rivett // Biochem. J. — 1989. — Vol. 263, No. 2. — P. 625–633.

77. *Калиман П. А.* Система протеиназа-ингибитор протеиназ у крыс при оксидативном стрессе, вызванном введением хлорида кобальта / П. А. Калиман, А. А. Самохин, Л. М. Самотина // Укр. Біохім. журн. — 2000. — Т. 72, № 1. — С. 89–92.

78. *Weiss S. J.* Tissue destruction by neutrophils / S. J. Weiss // New Engl. J. Med. — 1989. — Vol. 320, No. 6. — P. 365–376.

79. *Dunlop R. A.* Recent developments in the intracellular degradation of oxidized proteins / Dunlop R. A., Rodgers K. J., Dean R. T. // Free. Radic. Biol. Med. — 2002. — Vol. 33, No. 7. — P. 894–906.

80. *Peters J. M.* Distinct 19S and 20S subcomplexes of the 26S proteasome and their distribution in the nucleus and the cytoplasm / J. M. Peters, W. W. Franke, J. A. Kleinschmidt // J. Biol. Chem. — 1994. — Vol. 269, No. 10. — P. 7709–7718.

81. *Sohal R. S.* Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis // R. S. Sohal, R. J. Mockett, W. C. Orr // Free Radic. Biol. Med. — 2002. — Vol. 33, No. 5. — P. 575–586.

82. *Das R.* Redox regulation of the proteasome in T lymphocytes during aging / R. Das, S. Ponnappan, U. Ponnappan // Free Radic. Biol. Med. — 2007. — Vol. 42. — P. 541–551.

83. *Pacifici R. E.* Protein degradation as an index of oxidative stress / R. E. Pacifici, K. J. A. Davies // Methods Enzymol. — 1990. — Vol. 186. — P. 485–502.

84. *Demple B.* Repair of oxidative damage to DNA: enzymology and biology / B. Demple, L. Harrison // Annu Rev. Biochem. — 1994. — Vol. 63, No. 3. — P. 915–948.

85. *Yakes F. M.* Mitochondrial DNA Damage is More Extensive and Persists Longer than Nuclear DNA Damage in Human Cells Following Oxidative Stress / F. M. Yakes, B. V. Houten // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 1997. — Vol. 94, No. 2. — P. 514–519.

Рецензент: головний науковий співробітник лабораторії живлення ВРХ, доктор біологічних наук, професор Янович В. Г.