

УДК 577.151.04

## ИНТЕНСИВНОСТЬ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В КРОВИ КРЫС ПРИ ГИПОТЕРМИИ

Маяхи Мохаммед Т. Джабер, Ж. Г. Исмаилова,  
М. Д. Астаева, Н. К. Кличханов

Дагестанский государственный университет

Исследовано влияние гипотермии различной глубины и длительности на интенсивность свободнорадикальных процессов в крови крыс. Показано, что, в отличие от пролонгированной (3 ч.) умеренной (30°C) и глубокой (20°C) гипотермии, кратковременная умеренная гипотермия стимулирует продукцию активных форм кислорода в крови и окислительную модификацию липидов и белков мембран эритроцитов.

The effect of short-term moderate (30°C), prolonged (3 hour) moderate and deep hypothermia (20°C) on the activity of free radical processes in rats' blood was investigated. Short-term moderate hypothermia in contrast to the prolonged moderate and deep hypothermia, stimulates the production of reactive oxygen species in the blood and the oxidative modification of lipids and proteins of erythrocyte membranes is shown.

Ключевые слова: гипотермия; свободнорадикальные процессы; кровь; эритроциты; крысы.

Keywords: hypothermia; free radical processes; blood; erythrocytes; rats.

Для строгих гомойотермов, в том числе человека, снижение температуры тела является экстремальным состоянием. Гипотермия у этих организмов в природе может возникнуть случайно (акцидентальная гипотермия). В то же время общую и локальную гипотермию используют в медицинской практике, главным образом, в целях снижения кислородных запросов тканей и устранения ишемических и гипоксических явлений при травме мозга, инсультах, инфаркте миокарда, а также при обширных операциях на мозге, сердце, печени [1]. Наркотизированные гомойотермные организмы для поддержания постоянства температуры тела отвечают на холодовое воздействие увеличением теплопродукции за счет интенсификации дыхания, окислительных процессов, частичного разобщения процессов окисления и фосфорилирования [2]. Активация окислительных процессов, составляя важнейшее звено биохимической терморегуляции у теплокровных животных, может включать интенсификацию не только реакций окисления субстратов дыхания в дыхательной цепи, но и реакций свободнорадикального окисления.

Взаимодействие свободных радикалов с липидами клеточных мембран способствует их перекисному окислению. Продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ) сами по себе являются реактивными молекулами, которые приводят к обширным повреждениям мембран, органелл и клеток [3]. Между активностью свободных радикалов и степенью повреждения тканей имеется количественная связь, которую можно оценить по уровню интермедиатов окислительной модификации липидов и белков в крови. Малоновый диальдегид (МДА) является одним из конечных продуктов ПОЛ, и степень перекисидации липидов наиболее часто измеряется путем оценки уровня МДА [4]. Повышение уровня МДА в плазме крови обнаружено на начальных этапах гипотермии и умеренной гипотермии у крыс [5, 6]. Одним из маркеров окислительной модификации белков являются карбонильные группы. Они образуются при взаимодействии боковых аминокислотных остатков белка с гидроксильными радикалами [7]. Нами установлено, что при умеренной гипотермии существенно возрастает степень карбонилирования белков плазмы крови крыс [8]. Однако как зависит интенсивность свободнорадикальных процессов в крови от глубины и длительности гипотермии, а также какова роль антиоксидантной защиты в регуляции этих процессов, не в полной мере ясно. Знание этих механизмов представляет не только теоретический интерес, но имеет практическое значение, поскольку позволят разработать эффективные методы защиты тканей от окислительного стресса при гипотермических состояниях.

Целью данной работы является исследование интенсивности окислительной модификации липидов и белков мембран эритроцитов, а также активности антиоксидантной системы крови крыс при гипотермии различной глубины и длительности.

### Экспериментальная часть

Исследования выполнены на самцах крыс линии Вистар массой 180–200 г. Гипотермию вызывали охлаждением животных в плексигласовых камерах с рубашкой, через которую циркулировала холодная (5°C) вода. Температуру тела крыс равномерно (0.28°C/мин) снижали до 30°C (кратковременная умеренная гипотермия) и 20°C (глубокая гипотермия). У части животных после снижения температуры тела до 30°C достигнутый уровень гипотермии поддерживали в течение 3 часов (продолжительная умеренная гипотермия). Температуру измеряли в прямой кишке на глубине 4–5 см ректальным цифровым термометром MS6501.

Интенсивность образования активных форм кислорода (АФК) оценивали по содержанию мочевой кислоты и оксида азота в плазме крови. Содержание мочевой кислоты в плазме крови определяли энзиматическим методом при помощи тест-набора (Ольвекс Диагностикум). Уровень продукции оксида азота оценивали по содержанию его стабильных конечных метаболитов – нитратов и нитритов в плазме крови. Предварительно нитраты восстанавливали металлическим кадмием до нитритов, концентрация которых определяли по цветной реакции с реактивом Грисса [9].

Об интенсивности ПОЛ в крови судили по содержанию МДА в плазме крови и эритроцитах [10]. Об интенсивности окислительной модификации белков (ОМБ) плазмы крови и мембран эритроцитов судили по накоплению в них карбонильных групп, реагирующих с 2,4-динитрофенолгидразином [11]. При определении ОМБ использовались два показателя: исходный уровень ОМБ и ОМБ, индуцированная реактивом Фентона ( $Fe^{+2} + H_2O_2 + ЭДТА$ ). Содержание восстановленного глутатиона (GSH) в эритроцитах определяли методом Элмана [11]. В гемолизатах определяли активность ключевых антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы (СОД) [11] и каталазы [12]. Содержание гемоглобина определяли, используя набор реагентов фирмы «Ольвекс Диагностикум», содержание белка в мембранах эритроцитов – методом Лоури [13]. Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью пакетов прикладных программ Statistica-6.0 и Microsoft Excel с использованием методов одномерной статистики. В таблицах результаты представлены в виде средних значений ( $M$ ) ± стандартная ошибка ( $m$ ). Достоверность различий средних величин оценивали при помощи  $t$ -критерия Стьюдента. Различия считали достоверными при значениях  $p < 0.05$ .

### Результаты и их обсуждение

Результаты определения содержания мочевой кислоты в плазме крови крыс при исследованных гипотермических состояниях приведены в табл. 1. Видно, что при кратковременной умеренной гипотермии содержание мочевой кислоты в плазме крови существенно увеличивается (на 66.2%) относительно контрольного уровня. Пролонгирование этого состояния еще больше увеличивает продукцию мочевой кислоты. При глубокой гипотермии содержание мочевой кислоты в плазме крови остается на высоком уровне.

**Таблица 1.** Содержание мочевой кислоты и метаболитов оксида азота в плазме крови крыс при гипотермии ( $M \pm m$ ;  $n = 8$ )

№ п/п	Состояние животного	Содержание мочевой кислоты в плазме крови, мкмоль/л	Содержание метаболитов оксида азота в плазме, мкмоль/л
1.	Контроль	242.8 ± 15.1	23.5 ± 1.7
2.	Гипотермия 30°C	403.6 ± 20.8 $P_{1,2} < 0.001$	40.0 ± 3.5 $P_{1,2} < 0.001$
3.	Гипотермия 30°C 3 часа	433.5 ± 37.6 $P_{1,3} < 0.001$	29.7 ± 1.8 $P_{1,3} = 0.05$
4.	Гипотермия 20°C	415.1 ± 20.5 $P_{1,4} < 0.001$	35.3 ± 1.5 $P_{1,4} < 0.001$

свидетельствует об активации процессов генерации АФК при гипотермических состояниях.

Результаты исследования стабильных продуктов метаболизма NO в плазме крови приведены в табл. 1. Видно, что при снижении температуры тела до 30°C содержание метаболитов NO в плазме крови возрастает на 70% относительно контроля. При пролонгировании этого состояния в течение 3 часов продукция оксида азота уменьшается относительно кратковременной гипотермии 30°C, но остается достоверно выше контрольного значения. Глубокая ги-

Образование мочевой кислоты с генерацией супероксидного радикала происходит в ходе метаболизма пуриновых нуклеотидов (с образованием гипоксантина и ксантина), под действием ксантиноксидазы. В тканях организма (преимущественно печени и на эндотелиальных клетках сосудов) этот белок представлен в основном в форме мембранно-связанной ксантиндегидрогеназы. В условиях окислительного стресса и гипоксии ксантиндегидрогеназа быстро переходит в ксантиноксидазу [14]. При этом характер катализируемой реакции изменяется, и одновременно с мочевой кислотой начинает образовываться  $O_2^{\cdot -}$ , а затем и  $H_2O_2$ . Следовательно, рост уровня мочевой кислоты в плазме крови

потермия также характеризуется высоким уровнем метаболитов оксида азота в плазме крови.

NO образуется непрерывно в эндотелиальных клетках, обеспечивая осуществление многих физиологических функций, поддерживающих сосудистый гомеостаз. В сосудистой системе NO синтезируется изоформой NO-синтазы типа III (эндотелиальная NO-синтаза). NO, освобождаясь из эндотелиальной клетки, может диффундировать в гладкомышечные клетки или в кровоток. В гладкомышечных клетках сосудов NO вызывает вазодилатацию, а в кровотоке он взаимодействует с внутриэритроцитарным оксигемоглобином, образуя нитрат [15]. Часть NO, образующаяся при функционировании эндотелиальной NO-синтазы, подвергается аутооксидации с образованием нитрита. Внутрисосудистый гемолиз (что имеет место при гипотермии [16]) приводит к освобождению из эритроцитов гемоглобина в плазму крови. Этот свободный гемоглобин не ограничен диффузионными барьерами, которые ограничивают взаимодействие внутриэритроцитарного гемоглобина с NO. Быстрое взаимодействие NO с гемоглобином ведет к формированию нитрата и метгемоглобина, что препятствует диффузии NO из плазмы в гладкомышечные клетки. Соответственно гуанилатциклаза гладкомышечных клеток не активируется и расслабление сосудов и вазодилатация не происходит. Кроме того, внеэритроцитарный гемоглобин диссоциирует на димеры, способные проникать в пространство между эндотелиальными и гладкомышечными клетками, что приводит к дальнейшему связыванию NO [15].

В условиях окислительного стресса супероксид также может способствовать вазоконстрикции за счет связывания NO. Взаимодействие  $O_2^{\cdot -}$  с оксидом азота приводит к образованию пероксинитрита (ONOO<sup>-</sup>). Пероксинитрит – сильный окислитель, способный окислять белки, а также индуцировать процессы ПОЛ в мембранах [17, 18]. Кроме того, пероксинитрит индуцирует выход ионов меди из церулоплазмينا, которые в свою очередь могут участвовать в реакции Фентона.

Таким образом, с одной стороны, при гипотермии в крови возрастает продукция NO, с другой – его концентрация может снижаться в результате взаимодействия со свободным гемоглобином и супероксид анионом, что может способствовать вазоконстрикции сосудов. Это, вероятно, будет способствовать сохранению тепла в «ядре» тела, но приведет к ухудшению перфузии тканей кровью.

Приведенные выше результаты анализа содержания мочевой кислоты и метаболитов оксида азота в плазме крови свидетельствуют о том, что при гипотермии, особенно на ее начальных этапах, продукция АФК в крови существенно увеличивается. Происходит ли при этом активация процессов окислительной модификации важнейших биомолекул крови? Чтобы ответить на этот вопрос, мы исследовали интенсивность процессов ПОЛ и окислительной модификации белков мембран эритроцитов.

**Таблица 2.** Содержание МДА в крови крыс при гипотермии ( $M \pm m$ ,  $n = 5-6$ )

№ п/п	Состояние животного	Плазма, мкмоль/л	Эритроциты, мкмоль/л
1.	Контроль	$1.89 \pm 0.09$	$47.4 \pm 1.3$
2.	Гипотермия 30°C	$2.38 \pm 0.11$ $P_{1-2} < 0.05$	$57.6 \pm 0.8$ $P_{1-2} < 0.05$
3.	Гипотермия 30°C 3 часа	$2.44 \pm 0.14$ $P_{1-4} < 0.01$	$52.8 \pm 2.1$
4.	Гипотермия 20°C	$1.87 \pm 0.10$	$40.1 \pm 1.9$ $P_{1-2} < 0.05$

Анализ продуктов ПОЛ показал, что при гипотермии 30°C содержание МДА в плазме и эритроцитах возрастает на 25.9 и 18.2% соответственно относительно контроля (табл. 2). При пролонгировании состояния умеренной гипотермии содержание МДА в плазме и эритроцитах остается повышенным. Однако после глубокой гипотермии содержание МДА в плазме крови снижается до контрольного уровня, а в эритроцитах достоверно снижается относительно контроля.

Таким образом, при кратковременной и пролонгированной умеренной гипотер-

мии образующиеся АФК способствуют окислительной деструкции липидов плазмы крови и мембран эритроцитов.

Известно, что АФК, помимо стимуляции ПОЛ, способствуют окислительной модификации как растворимых, так и мембраносвязанных белков. Мембранные белки, находящиеся в гидрофобных доменах могут подвергаться окислительной модификации также под действием перекисных радикалов соседних липидов. Исследование карбонильных групп, являющихся одним из маркеров ОМБ, показало, что их содержание в белках мембран эритроцитов при гипотермии 30°C существенно (на 56%) увеличивается (табл. 3). Однако степень окисляемости мембранных белков в условиях *in vitro* при этом увеличивается незначительно. При пролонгировании умеренной гипотермии в мембранных белках существенно снижается (на 63%) как исходный уровень карбонильных групп, так и их прирост (на 59%) под действием генерируемых в среде инкубации оксидантов. Глубокая гипотермия снижает как исходный уровень

карбонильных групп в белках, так и их накопление в модельной системе. Карбонильные производные образуются в результате металлкализируемого окисления пролиновых, аргининовых, лизиновых и гистидиновых остатков аминокислот [7]. Они могут образовываться также при участии аминокислотных остатков лизина, цистеина и гистидина с продуктами перекисного окисления липидов. По сравнению с другими формами окислительной модификации белков, механизм их карбонилирования гораздо сложнее, и эта реакция необратима. Существенное снижение степени ОМБ мембран после пролонгированной умеренной гипотермии можно объяснить селективной деградацией этих белков протеосомной системой эритроцитов. Другой причиной может быть внутрисосудистый гемолиз окислительно модифицированных эритроцитов [16].

**Таблица 3.** Содержание карбонильных групп в мембранных белках (нмоль/мг белка) эритроцитов крыс при гипотермии разной глубины и длительности

№ п/п	Состояние животного	Исходный уровень карбонильных групп	Прирост карбонильных групп <i>in vitro</i> за 15 мин
1.	Контроль	2.84 ± 0.09	11.32 ± 1.13
2.	Гипотермия 30°C	4.42 ± 0.31 $P_{1,2} < 0.001$	13.30 ± 0.75 $P_{1,2} < 0.2$
3.	Гипотермия 30°C, пролонгированная 3 часа	1.05 ± 0.04 $P_{1,3} < 0.001$	4.62 ± 0.54 $P_{1,3} < 0.001$
4.	Гипотермия 20°C	2.59 ± 0.23 $P_{1,4} < 0.001$	9.10 ± 0.37 $P_{1,4} < 0.01$

гемолиза эритроцитов зависела от глубины и длительности гипотермии. Нарушение стабильности мембран эритроцитов и выход гемоглобина в плазму, а также накопление продуктов его деструкции (гем, гемин,  $Fe^{2+}$ ) приводит к углублению сдвигов метаболизма – вторичной активации ПОЛ и окислительной модификации белков. Это связано с тем, что взаимодействие внеэритроцитарного гемоглобина и  $H_2O_2$  приводит к образованию гидроксильного радикала и феррил-радикала гемоглобина [20], которые являются активными индукторами процессов перекисидации липидов и окислительной модификации белков.

**Таблица 4.** Содержание глутатиона (ммоль/мл белка), активность СОД (усл. ед/мг Нв) и каталазы (мкмоль  $H_2O_2$ /мг Нв/мин) в эритроцитах крыс при гипотермии ( $M \pm m$ ;  $n = 4-6$ )

№ п/п	Состояние животного	Глутатион	СОД	Каталаза
1.	Контроль	2.43 ± 0.09	2.38 ± 0.12	51.32 ± 1.03
2.	Гипотермия 30°C	2.01 ± 0.15 $P_{1-2} < 0.05$	2.92 ± 0.12 $P_{1-2} < 0.02$	48.72 ± 1.53
3.	Гипотермия 30°C 3 часа	3.11 ± 0.21 $P_{1-3} < 0.05$	4.28 ± 0.15 $P_{1-3} < 0.001$	51.48 ± 0.93
4.	Гипотермия 20°C	2.59 ± 0.08	1.66 ± 0.10 $P_{1-4} < 0.001$	50.90 ± 0.86

по-видимому, за счет ее поступления из плазмы, а также из-за дисбаланса в работе СОД и каталазы (см. ниже). В условиях окислительного стресса падение уровня GSH в эритроцитах способствует освобождению железа из гемоглобина [22]. Ионы свободного железа стимулируют процессы ПОЛ и окислительной модификации белков, а также гемолиз эритроцитов, что было обнаружено при гипотермии [16].

Установлено, что окислительная модификация мембран эритроцитов перекисью водорода и поперечносшивающими реагентами типа МДА приводит к уменьшению деформируемости эритроцитов вследствие превращения их в клетки с более сферической формой – эхиноциты [19]. Снижение деформируемости эритроцитов в результате окислительной модификации мембранных белков и липидов способствует снижению пластичности клетки и может привести к задержке эритроцитов в микрососудистом русле и внутрикапиллярному гемолизу. Данные, полученные в нашей лаборатории, свидетельствуют о существенном увеличении в плазме крови содержания внеэритроцитарного гемоглобина при гипотермии [16]. При этом степень внутрисосудистого

Результаты исследования различных звеньев антиоксидантной защиты представлены в табл. 4. Видно, что при кратковременной умеренной гипотермии содержание GSH в эритроцитах снижается на 17.3% относительно контроля. Пролонгирование этого состояния приводит к повышению уровня GSH на 28% относительно контроля. При глубокой гипотермии содержание GSH в эритроцитах возрастает до контрольного уровня.

Установлена прямая связь между уровнем пероксида водорода и GSH в клетках [21]: чем выше концентрация  $H_2O_2$ , тем ниже концентрация в клетке GSH. Повышение уровня  $H_2O_2$  в эритроцитах при умеренной гипотермии происходит,

Наряду с глутатионом важную роль в защите эритроцитов от АФК играют антиоксидантные ферменты. Исследование СОД эритроцитов показало, что при гипотермии 30°C ее активность повышается на 22.7% (табл. 4). Пролонгирование этого состояния еще больше увеличивает активность фермента. При глубокой гипотермии достоверно снижается активность СОД относительно контроля.

Молекула СОД имеет редокс-чувствительную тиоловую группу [23]. Повышение активности СОД при гипотермии 30°C, особенно при пролонгированной 3 ч. гипотермии 30°C, видимо, является результатом восстановления этой SH-группы восстановленным глутатионом. Повышение активности СОД в эритроцитах при кратковременной и, особенно, пролонгированной гипотермии 30°C, очевидно, имеет компенсаторный характер и направлено на снижение свободнорадикальных процессов в крови. Это приводит к снижению уровня супероксидного радикала в эритроцитах, который, как было отмечено выше [18], при взаимодействии с нитро-радикалом образует пероксинитрит, представляющий опасность для гемоглобина.

Активность антиоксидантных ферментов связана с интенсивностью свободнорадикальных процессов. Накопление АФК вызывает подавление активности СОД. Экспозиция эритроцитов в среде с H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> концентрационнозависимо инактивирует СОД [24]. Можно предположить, что снижение активности СОД при глубокой гипотермии связано с окислительной модификацией молекулы фермента.

В отличие от СОД активность каталазы при гипотермических состояниях не изменяется.

Анализ полученных результатов позволяет прийти к следующему заключению. Кратковременная умеренная гипотермия интенсифицирует процессы образования АФК в крови. Возникающий при этом окислительный стресс приводит к деструкции мембранных липидов и белков эритроцитов, их последующему гемолизу. Пролонгирование умеренной гипотермии в течение 3 ч. способствует, с одной стороны, снижению интенсивности генерации АФК, с другой – повышению активности антиоксидантной защиты эритроцитов, что уменьшает степень окислительных повреждений мембран эритроцитов. Эти данные свидетельствуют о том, что при пролонгированной гипотермии 30°C в крови происходит адаптивная перестройка метаболических процессов, направленная на снижение интенсивности СРП. Глубокая гипотермия, в отличие от кратковременной умеренной гипотермии, не стимулирует процессы окислительной модификации липидов и белков мембран эритроцитов. Это является результатом, с одной стороны, воздействия низкой температуры, с другой – интенсивного гемолиза окислительно модифицированных эритроцитов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Metabolic downregulation: a key to successful neuroprotection? / M. Yenari, K. Kitagawa, P. Lyden, M. Perez-Pinzon // *Stroke*. 2008. Vol. 39. P. 2910–2917.
2. Тимофеев Н.Н., Прокопьева Л.П. Нейрохимия гипобиоза и пределы криорезистентности организма. М.: Медицина, 1997. 208 с.
3. Halliwell B., Gutteridge J.M.C. Free radicals in biology and medicine. Oxford: Univ. Press, 1999. 936 p.
4. Del R.D., Stewart A.J., Pellegrini N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress // *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 2005. Vol. 15. P. 316–328.
5. Львова С.П., Горбунова Т.Ф., Абаева Е.М. Влияние гипотермии и даларгина на перекисное окисление липидов в тканях крыс // *Вопр. мед. химии*. 1993. Т. 39. Вып. 3. С. 21–24.
6. Таджибова Л.Т., Даудова Т.Н., Кличханов Н.К. Влияние даларгина на интенсивность перекисного окисления липидов в тканях крыс // *Вестн. Дагест. гос. техн. ун-та. Техн. науки*. 2011. Т. 20. № 1. С. 105–113.
7. Дубинина Е.Е., Пустыгина А.В. Окислительная модификация протеинов, ее роль при патологических состояниях // *Укр. биохим. журн.* 2008. Т. 80. № 6. С. 5–18.
8. Кличханов Н.К., Исмаилова Ж.Г., Эмирбеков Э.З. Интенсивность окислительной модификации белков плазмы крови при гипотермии на фоне введения даларгина // *Бюл. эксперим. биол. и мед.* 2001. Т. 131. № 3. С. 281–284.
9. Емченко Е.А., Цыганенко О.И., Ковалевская Т.В. Универсальный метод определения нитратов в биосредах организма // *Клин. лаб. диагностика*. 1994. № 6. С. 19–20.
10. Андреева Л.И., Кожемякин А.А., Кишкун А.А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // *Лаб. дело*. 1988. № 11. С. 41–43.
11. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма. Методические рекомендации. СПб.: ИКФ «Фолиант», 2000. 104 с.
12. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.Н. Иванова, И.Г. Майорова, В.Е. Токарев // *Лаб. дело*. 1988. № 1. С. 16–19.
13. Protein measurement with the Folin phenol reagent / D.H. Lowry, H.J. Rosebrough, A.L. Farr, R.J. Randall // *J. Biol. Chem.* 1951. Vol. 193. P. 265–275.
14. Berry C.E., Hare J.M. Xanthine oxidoreductase and cardiovascular disease: molecular mechanisms and pathophysiological implications // *J. Physiol.* 2004. Vol. 555(3). P. 589–606.

15. Relative role of heme nitrosylation and beta-cysteine 93 nitrosation in the transport and metabolism of nitric oxide by hemoglobin in the human circulation / *M.T. Gladwin, F.P. Ognibene, L.K. Pannell, J.S. Nichols, M.E. Pease-Fye, J.H. Shelhamer, A.N. Schechter* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2004. Vol. 97. № 18. P. 9943–9948.
16. Эмирбеков Э.З., Сфиев А.А., Кличханов Н.К. Исследование устойчивости эритроцитов крыс при гипотермии // *Проблемы криобиол.* 1991. № 4. С. 31–33.
17. *Ishiopoulus H., Al-Mehdi A.B.* Peroxynitrite-mediated oxidative protein modifications // *FEBS Letters*. 1995. Vol. 364. P. 27–282.
18. *Szabó C, Ischiropoulos H., Radi R.* Peroxynitrite: biochemistry, pathophysiology and development of therapeutics // *Drug Discovery*. 2007. Vol. 6. P. 662–680.
19. Effects of oxidative damage of membrane protein thiol groups on erythrocyte membrane viscoelasticities / *X. Wang, Z. Wu, G. Song, H. Wang, M. Long, S. Cai* // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 1999. Vol. 21. P. 137–146.
20. *Giulivi C., Davies K.J.* Mechanism of the formation and proteolytic release of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced dityrosine and tyrosine oxidation products in hemoglobin and red blood cells // *J. Biol. Chem.* 2001. Vol. 276(26). P. 24129–24136.
21. *Spolarics Z., Wu J.X.* Role of glutathione and catalase in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> detoxification in LPS-activated hepatic endothelial and Kupffer cells // *Am. J. Physiol.* 1997. Vol. 273(6, Pt 1). P. G1304–1311.
22. Iron release, oxidative stress and erythrocyte ageing / *M. Comporti, C. Signorini, G. Buonocore, L. Ciccoli* // *Free Rad. Biol. Med.* 2002. Vol. 32(7). P. 568–576.
23. *De Beus M.D., Chung J., Colon W.* Modification of cysteine 111 in Cu/Zn superoxide dismutase in altered spectroscopic and biophysical properties // *Protein Sci.* 2004. Vol. 13. P. 1347–1355.
24. Superoxide dismutase undergoes proteolysis and fragmentation following oxidative modification and inactivation / *D.C. Salo, R.E. Pacifici, S.W. Lin, C. Giulivi, K.J.A. Davies* // *J. Biol. Chem.* 1990. Vol. 265. N 20. P. 11919–11927.

Поступила в редакцию 10.04.2012 г.  
Принята к печати 26.06.2012 г.