

БІОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ НЕЕНЗИМАТИЧНОГО ГЛІКОЗИЛЮВАННЯ*Л. М. ЛОЗІНСЬКА, Г. М. СЕМЧИШИН**Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника,
Івано-Франківськ, Україна;
e-mail: setchyshyn@pu.if.ua*

*Неензиматичні процеси назагал відіграють неоднозначну роль у живих організмах. Відомо, що неензиматичне глікозилювання може призводити до порушення структури та функціонування біомолекул, і, таким чином, ініціювати розвиток, а також супроводжувати різноманітні захворювання. З іншого боку, продукти неензиматичних реакцій за певних умов відіграють роль сигнальних молекул та беруть участь у формуванні імунної відповіді. У роботі узагальнено сучасні дані щодо особливостей неензиматичного глікозилювання та карбонільного стресу в живих організмах. Висвітлено роль активних карбонільних сполук та редуруючих вуглеводів у глікації біомолекул, участь неензиматичного глікозилювання у розвитку карбонільного стресу та зв'язок глікації з вільнорадикальними процесами. Узагальнено основні шляхи попередження глікації та захисту організмів від карбонільного стресу, спричиненого неензиматичним глікозилюванням. Окремий розділ присвячено дослідженням дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* як модельної системи у вивченні процесів неензиматичного глікозилювання.*

*Ключові слова: неензиматичне глікозилювання, активні карбонільні сполуки, кінцеві продукти глікації, карбонільний стрес, оксидативний стрес, редууючі вуглеводи, *Saccharomyces cerevisiae*.*

Ензиматичні процеси, які є унікальною особливістю живого, традиційно — один з основних напрямів досліджень у біохімії. Водночас, неензиматичні реакції в живих системах у переважній більшості випадків знаходяться поза увагою вчених. Дослідження останніх десятиліть спростовують традиційну думку про несуттєву роль у функціонуванні живого неензиматичних процесів, які назагал призводять до появи у клітинах проміжних та кінцевих продуктів, що не мають енергетичної чи структурної цінності. Ці процеси можуть призводити до хімічної модифікації біологічних молекул, впливати на функціональні можливості клітин, супроводжувати різні захворювання [1–5], тому живі організми в процесі еволюції розвинули складні, тонкорегульовані системи захисту від небажаних ефектів. З іншого боку, продукти неензиматичних реакцій відіграють важливу роль у клітинному сигналюванні, регуляції експресії генів, імунній відповіді тощо [6–8]. Яскравими прикладами таких процесів у живих клітинах є, зокрема, вільнорадикальне окислення та неензиматичне глікозилювання [9, 10].

Реакція глікації Майяра

Реакцію неензиматичного глікозилювання на прикладі взаємодії вуглеводів з

амінокислотами вперше було описано у 1912 році Луї Камілем Майяром (Louis Camille Maillard) [11, 12]. Більш як через 40 років реакцію Майяра (Maillard reaction) було ідентифіковано як одну з основних, що відбувається під час приготування їжі, внаслідок чого вона стала предметом дослідження спеціалістів у галузі харчових технологій [13–15]. У другій половині 1960-х років продукти реакції Майяра (подібні до виявлених у процесі приготування їжі) знайдено в організмі людини [16, 17]. Особливої важливості вивчення цієї реакції в живих системах набуло, з огляду на здатність глюкози взаємодіяти із протеїнами крові, у пацієнтів хворих на цукровий діабет [18–21]. Таким чином, більше як півстоліття було необхідно для усвідомлення важливого фізіологічного значення реакції, описаної Майяром. У 1980-х роках взаємодія між відновлюючими моносахаридами та аміногрупами біомолекул без участі ензимів одержала назву неензиматичного глікозилювання (non-enzymatic glycosylation). Проте кілька років потому була названа процесом глікації (glycation) з метою чіткого відмежування її від процесу ензиматичного глікозилювання, важливого у посттрансляційній модифікації протеїнів [22].

У реакції Майяра можуть утворюватися різноманітні сполуки, які відрізняються за хімічними та фізичними властивостями

ми, оскільки ці речовини є продуктами не лише конденсації, але й ізомеризації продуктів глікації, їх розпаду тощо. Крім того, реакція Майяра є передумовою утворення вільних радикалів, активованих форм кисню (reactive oxygen species) та активних карбонільних сполук (reactive carbonyl species). Добре відомо, що активовані форми кисню (АФО) та активні карбонільні сполуки (АКС) беруть участь у неензиматичних хімічних процесах, що призводить до утворення найрізноманітніших проміжних і кінцевих продуктів [3, 23]. З огляду на це, на сьогоднішній день широко застосовується поняття «хімія Майяра» (Maillard chemistry), яке об'єднує складний комплекс послідовних та паралельних реакцій [15, 24–26]. Початковим етапом цих перетворень, які за своєю складністю і непередбачуваністю нагадують вільнорадикальні процеси, є ковалентна взаємодія між карбонільною та аміногрупою біомолекул.

Відомо, що глікації піддаються майже всі біомолекули, які мають вільну аміногрупу: амінокислоти, протеїни, амінофосфоліпіди, нуклеїнові кислоти тощо [9, 27, 28]. Напрямок та характер подальших перетворень залежить також від типу сполуки, що містить активну карбонільну групу та ініціює процес. Власне кажучи, сполуки, що у фізіологічних умовах здатні до неензиматичного глікозилювання біомолекул, мають загальну назву – агенти глікації (glycating agents) [3, 29, 30]. Проміжні продукти глікації називаються карбонільними інтермедіатами (carbonyl intermediates) [31–33]. Внаслідок подальших неензиматичних взаємодій за участю агентів глікації та карбонільних інтермедіатів у клітині формуються та накопичуються досить стабільні кінцеві продукти глікації (КПГ) (advanced glycation end products, AGEs), більшість яких є адуктами протеїнової та ліпідної природи [3, 31, 34].

Агенти глікації. Активні карбонільні сполуки

Найчастіше агентами глікації в біологічних системах є редукуючі вуглеводи (рис. 1), такі як глюкоза, фруктоза, арабіноза, галактоза, маноза, мальтоза, оскільки вони у відносно високих концентраціях знаходяться в живих організмах [3, 31]. Слід зауважити, що вуглеводи відрізняються між собою здатністю до глікації. Зокрема, глюкоза вважається однією з найменш активних серед моносахаридів, які вступають в реакцію Майяра у фізіологічних

умовах [3, 31, 35, 36]. Окрім того, тільки 0,001% від загальної кількості глюкози *in vivo* знаходиться у формі нестабільного ациклического ізомеру, здатного ініціювати реакцію глікації [30].

Деякі агенти глікації завдяки наявності кількох карбонільних груп або ненасичених подвійних зв'язків виявляють активність у десятки тисяч разів вищу порівняно із глюкозою [37, 38]. Такі агенти глікації належать до АКС, які, зазвичай, мають у своєму складі від трьох до дев'яти атомів карбону, а також одну або більше карбонільну групу (рис. 2). Найреакційоздатнішими АКС є α - і β -ненасичені альдегіди, діальдегіди та кетоальдегіди [27, 37–39]. Деякі з них можуть мати екзогенне походження. Наприклад, акролеїн, кротональдегід, ацетон і формальдегід є поширеними промисловими забруднювачами, які здатні швидко проникати в організм із довкілля [40, 41]. Інші екзогенні джерела АКС – цигарковий дим, харчові добавки, продукти фармацевтичного та косметичного виробництва [42]. Велика кількість метилглюксалу утворюється під час приготування та зберігання харчових продуктів. Так, багато мікроорганізмів здатні продукувати метилглюксаль під час ферментації. Наприклад, дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* здійснюють його синтез у процесі виготовлення вина. Вивільнення метилглюксалу в середовище ферментації молока відбувається внаслідок діяльності *Lactobacillus sp.* Відомо, що *Escherichia coli*, так само як і *S. cerevisiae* та багато інших мікроорганізмів, має метилглюксальсинтазу (4.2.3.3) [43, 44]. Також джерелом метилглюксалу може бути фотодеградація ліпідів та їхніх похідних. Відомо, що метилглюксаль може утворюватися в питній воді, особливо під час її хлорування та озонування [30, 44]. Іншими важливими агентами глікації, які утворюються під час приготування їжі, є акриламід та 5-гідроксиметилфурфураль. Ці дві сполуки привертають увагу дослідників через їхню високу токсичність [7].

Серед α - і β -дикарбонільних сполук найкраще вивчено такі: малоновий альдегід, глюксаль, метилглюксаль, глюкозон, 3-дезоксиглюкозон та рибозон. Слід зауважити, що згадані АКС можуть бути побічними продуктами важливих метаболічних процесів, зокрема гліколізу, окислення амінокислот, поліольного шляху тощо [24, 30]. Глюксаль та метилглюксаль – високореакційні діальдегіди, що формуються у клітині як проміжні про-

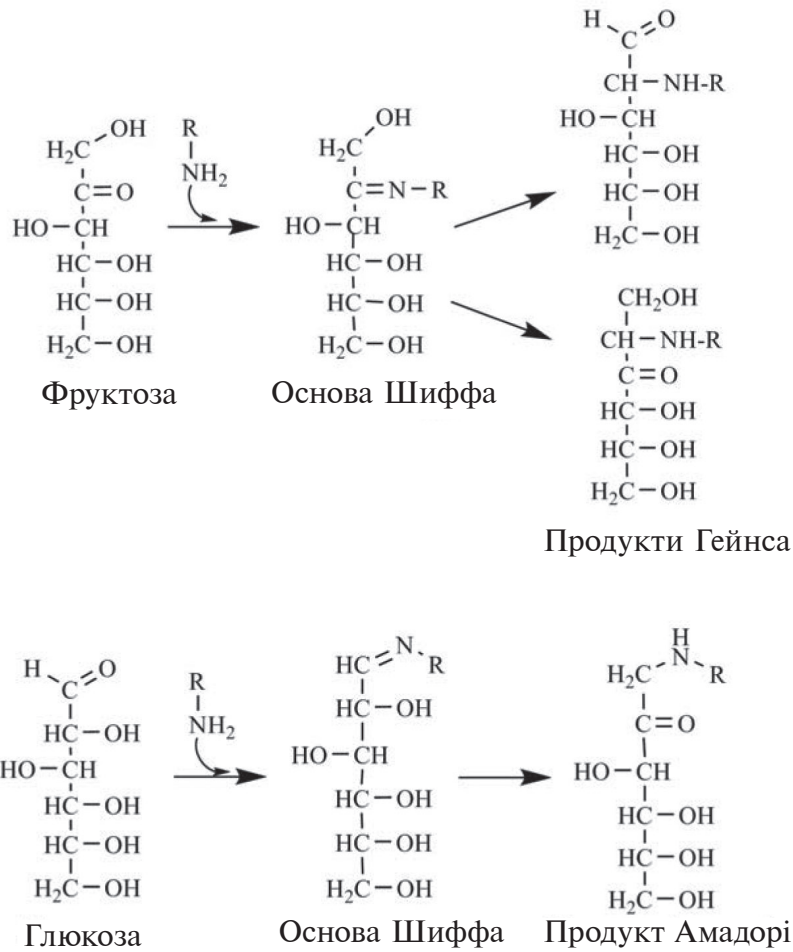


Рис. 1. Реакція Майяра за участю глюкози і фруктози, формування продуктів Амадорі та Гейнса

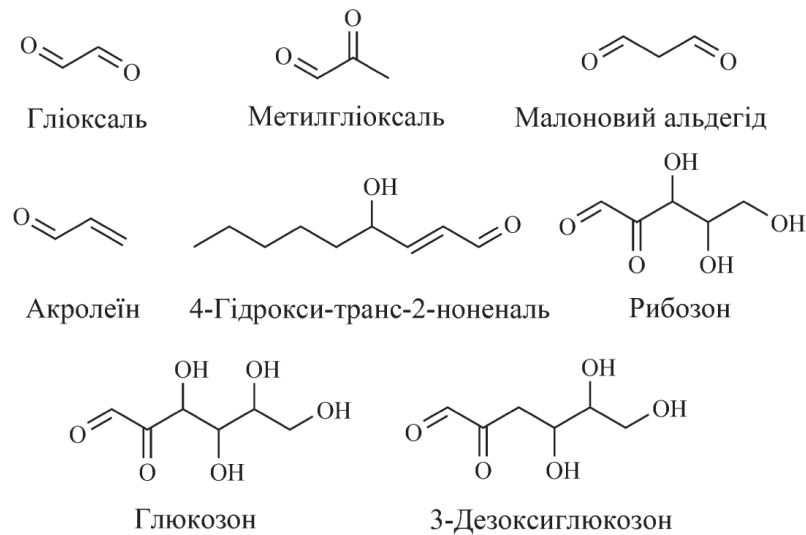


Рис. 2. Основні дикарбонільні сполуки в живих організмах

дукти глікації. Метилглюксаль також утворюється внаслідок метаболізму кетонів тіл, окислення треоніну тощо [30, 45–48]. Відомо, що метилглюксаль може утворюватися під час неензиматичної та ензиматичної деградації інтермедіатів гліколізу фосфотріоз [23, 27]. Формування метилглюксалу у цьому разі відбувається внаслідок елімінації фосфату із гліцеральдегід-3-фосфату і дигідроксіацетонфосфату [49]. Високою здатністю до глікації відзначається також 3-дезоксиглюкозон, низькомолекулярний аліфатичний кетоальдегід, який формується із фруктозо-3-фосфату через поліольний шлях [30]. Разом із глюксалем та метилглюксалем 3-дезоксиглюкозон є чи не найагресивнішим агентом глікації та прекурсором КПГ [33, 50]. Внаслідок реакцій енолізації, окислення і фрагментації карбонільних інтермедіатів у клітині можуть формуватися й інші низькомолекулярні карбонільні сполуки, зокрема еритрозон, рибозон, глюкозон, гідроксипірувальдегід, 3-деоксирибозон [4, 30, 51]. Джерелом АКС у клітині можуть бути також такі неензиматичні процеси як пероксидне окислення ліпідів (ПОЛ) і протеїнів, автоокислення вуглеводів і, що найцікавіше, неензиматичне глікозилювання [33, 52–54]. Таким чином, АКС можуть ініціювати глікацію, а також бути проміжними продуктами цього процесу, замикаючи, так зване, хибне коло.

АКС як і більшість вторинних або проміжних продуктів метаболізму є електрофільними сполуками, а отже відносно легко взаємодіють із різноманітними клітинними структурними компонентами, більшість яких має нуклеофільну природу [55–57]. Беручи до уваги високу електрофільність АКС, ці сполуки досить часто ототожнюють з активними електрофільними сполуками (reactive electrophile species). Проте слід пам'ятати, що останнє поняття об'єднує широке коло біологічно активних електрофільних сполук, серед яких є не тільки карбонільні речовини. Такі сильні нуклеофіли як тіолові, імідазольні, гідроксильні групи у складі біомолекул, а також атоми нітрогену та кисню пуринових і піримідинових основ є привабливими мішенями для електрофільних атак. Назагал, згадані вище взаємодії можуть призводити до хімічної модифікації протеїнів, нуклеїнових кислот, амінофосфоліпідів, що, у свою чергу, може бути причиною цитотоксичної та мутагенної дії АКС [24, 40]. Зазначимо, що за біологічними ефектами АКС є подібними до АФО. Проте АКС відрізняються відносно тривалим часом жит-

тя, а отже є стабільнішими. Наприклад, АКС мають середній час напівжиття від хвилин до годин, водночас АФО – від 10^{-9} до 10^{-6} с [37, 58–61]. Вища стабільність незаряджених АКС дозволяє їм практично безперешкодно дифундувати у внутрішньоклітинному просторі і навіть залишати межі клітини, проявляючи свою активність на відстанях, далеких від місця їх утворення. Саме з цією особливістю пов'язують наслідки таких взаємодій, які можуть бути іноді небезпечнішими для організму, ніж у разі з АФО.

Ранні та кінцеві продукти глікації

Як згадувалось вище, у процесі глікації можуть брати участь моносахариди, зокрема глюкоза. Внаслідок взаємодії карбонільної групи глюкози та аміногрупи будь-якої біомолекули на першому етапі утворюється нестабільна основа Шиффа (рис. 1), яка відразу у процесі ізомеризації (перетворення Амадори) призводить до формування, стабільніших за основи Шиффа, 1-аміно-1-дезоксикетоз, які ще мають назву кетоамінів, або продуктів Амадори [3, 12]. Інша загальна назва продуктів Амадори, які є похідними гексоз, – фруктозаміни [62, 63]. На практиці ці речовини мають важливе значення для діагностики [3].

Найчастіше мішенями для неензиматичного приєднання вуглеводного компонента є аміногрупи в залишках лізину та аргініну, а також вільна аміногрупа на N-кінці молекули протеїну [1–4]. Зокрема, у фізіологічних системах рівень глікованих залишків лізину та аргініну може сягати 0,01–1%. В умовах *in vitro* відсоток амінокислот, які піддаються глікації, значно вищий. Відомо, що окрім залишків лізину та аргініну, нуклеофільні групи гістидину та триптофану теж можуть піддаватись глікації [4, 5].

З огляду на складність процесу неензиматичного глікозилювання, існує його умовний поділ на певні етапи, який ґрунтується на черговості появи у клітині певних продуктів глікації. Продукти Амадори, зазвичай, визначають як ранні продукти глікації. До них відносять різноманітні похідні амінокислот, наприклад N-(1-дезоксид-Д-фруктозил)лізин. Ранні продукти глікації, хоча і стійкіші за основи Шиффа, теж характеризуються відносною нестабільністю і в подальшому швидко перетворюються, зокрема піддаються фрагментації, перегрупуванню та повторній взаємодії з аміногрупами. Саме на цій стадії у клітині з'являються карбонільні інтермедіати, які далі утворюють стабільні КПГ [64]. Якщо

в клітині вчасно не переривається каскад неензиматичних процесів, то КПГ поступово накопичуються [28].

Виділяють наступні групи КПГ протеїнової природи, які утворюються за фізіологічних умов (рис. 3): 1) гідромідазали, що формуються під час взаємодії залишків аргініну з метилглюксалем, глюксалем або 3-дезоксиглюкозоном; 2) монолізинові адукти, які утворюються за взаємодії лізину з метилглюксалем, глюксалем або 3-дезоксиглюкозоном; 3) біс(лізил)імідазольні похідні, серед яких лізинові димери, зшиті метилглюксалем, глюксалем або 3-дезоксиглюкозоном, а також димери лізину та аргініну; 4) похідні цистеїну, що утворюються внаслідок глікації сульфгідрильної групи [4, 65–68]. Як бачимо з хімічних структур КПГ (деякі з них наведено на рис. 3, зокрема, пентозидин, метилглюксаль-лізиновий димер (МОЛД), глюксаль-лізиновий димер (ГОЛД) та інші) – це сполуки, які формують внутрішньомолекулярні та міжмолекулярні перехресні зв'язки. Найчастіше протеїнові димери формуються внаслідок процесів циклізації за участю аміногруп амінокислот та відповідних АКС [27, 66]. Назагал, протеїнові КПГ виявляють різну фізіологічну дію. Деякі з них є факторами розпізнавання для специфічних КПГ-рецепторів на поверхні клітин (карбоксиметиллізин (КМЛ), метилглюксаль-похідні) [15, 69, 70]. Відомо також, що накопичення КПГ супроводжує старіння, а також розвиток і перебіг різноманітних захворювань [4].

Глікація нуклеїнових кислот теж призводить до формування КПГ *in vivo*. Типова модифікація нуклеїнових кислот здійснюється за нуклеофільними групами гуаніну, аденіну і цитозину [9, 27, 71]. Зокрема, такі АКС як глюксаль та метилглюксаль можуть формувати стабільні моноадукти нуклеотидів, наприклад, 6,7-дигідро-6,7-дигідромідазо-пурин-9(8)-они і зшивки, головним чином, між дезоксигуанозином і дезоксиаденозином (рис. 4). Нуклеїнові кислоти є молекулами із тривалим періодом існування, тому клітини можуть акумулювати стабільні дезоксинуклеозидтрифосфат-КПГ адукти [72, 73]. Механізми та наслідки генотоксичності згаданих вище сполук є подібними в евкаріотів та прокариотів. Зокрема, присутність комплексів дезоксинуклеозидтрифосфат-КПГ супроводжується підвищеним числом мутацій, трансверсій та вищою частотою транспозицій, порушенням структури ланцюга ДНК, цитотоксичністю та модифікацією хроматину загалом [8, 46, 67, 73].

КПГ також можуть формуватися під час реакції агентів глікації з амінофосфоліпідами та індукувати ПОЛ, наприклад, шляхом безпосередньої взаємодії глюкози з аміногрупами фосфоліпідів, таких як фосфатидилетаноламін і фосфатидилсерин [31, 74].

Загалом, передумов формування КПГ у клітині є кілька. Окрім глікації можна виділити щонайменше ще кілька неензиматичних процесів, які призводять до формування КПГ у фізіологічних системах: 1) автоокислення моносахаридів (автоокислювальне глікозилювання) [4]; 2) фрагментація основ Шиффа [27]; 3) деградація кетоамінів (продуктів Амадори) [31]; 4) ПОЛ [24, 25, 37, 74, 75] тощо.

Рівень карбонільних сполук *in vivo* та розвиток карбонільного стресу

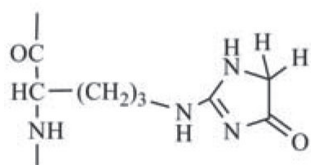
За участю спеціалізованих систем або ж спонтанно карбонільні сполуки постійно утворюються в живих організмах та піддаються деградації [76–79]. Крім того, як згадувалося вище, АКС досить легко вступають у хімічні реакції, а, отже, їх концентрація у клітині є параметром динамічним. Таким чином, якщо мова йде про живу клітину, слід мати на увазі рівноважні концентрації АКС. Зростання стаціонарного рівня АКС призводить до розвитку в клітині карбонільного стресу [80, 81].

Концепція карбонільного стресу вперше була сформульована у 1999 році японськими вченими, які запропонували наступне визначення: карбонільний стрес – це стан, який виникає внаслідок зростання інтенсивності окислення вуглеводів та ліпідів, що призводить до надмірного утворення АКС або недостатньої детоксикації/інактивації АКС [80]. За аналогією із сучасною концепцією оксидативного стресу [76] можна запропонувати наступне визначення: карбонільний стрес – гостре чи хронічне збільшення стаціонарного рівня АКС та КПГ, що призводить до порушення метаболізму клітини і пошкодження її компонентів (рис. 5). Які ж причини розвитку карбонільного стресу? Насамперед, як уже зазначалося, це посилене утворення у клітині АКС і послаблення систем їхньої деградації. Обидва процеси можуть відбуватись у клітині одночасно.

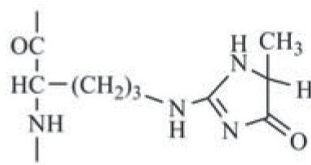
Розвиток карбонільного стресу в природних умовах є повільним та тривалим процесом. Насамперед це зумовлено великою кількістю можливих перетворень продуктів глікації. Слід зауважити, що, незважаючи на

Гідроїмідазолони (похідні аргінінових залишків) модифіковані відповідно:

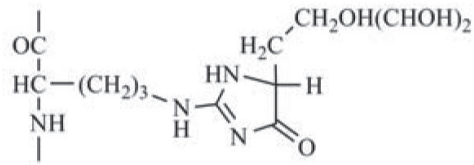
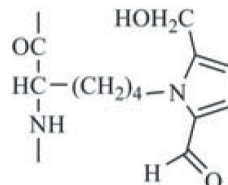
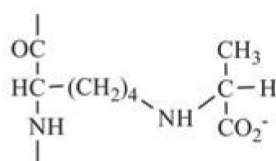
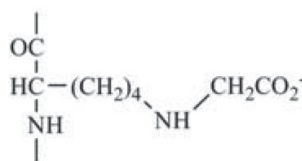
Глюксалем



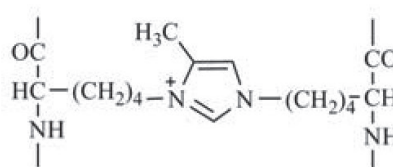
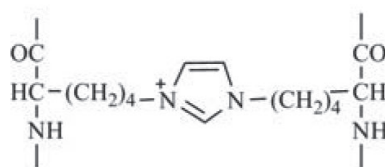
Метилглюксалем



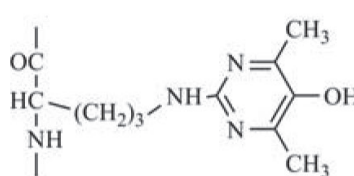
3-Дезоксиглюкозоном

**Монолізинові адукти**N^ε-Карбоксиметиллізин
(КМЛ)N^ε-Карбоксиетиллізин
(КЕЛ)

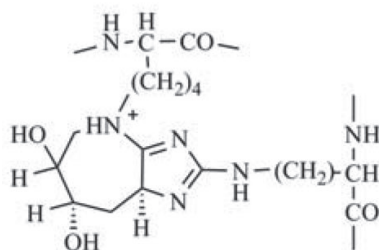
Піралін

Біс(лізил)імідазольні зшивкиГлюксаль-лізиновий димер
(ГОЛД)Метилглюксаль-лізиновий димер
(МОЛД)

Пентозидин



Аргпіримідин



Глюкосепан

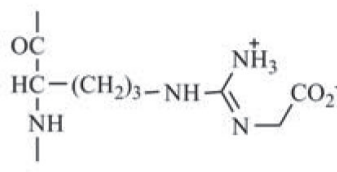
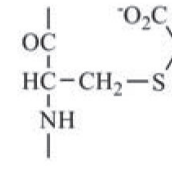
N^ω-карбоксиметиларгінін
(КМА)S-карбоксиметилцистеїн
(КМЦ)Рис. 3. Кінцеві продукти глікації протеїнів *in vivo*

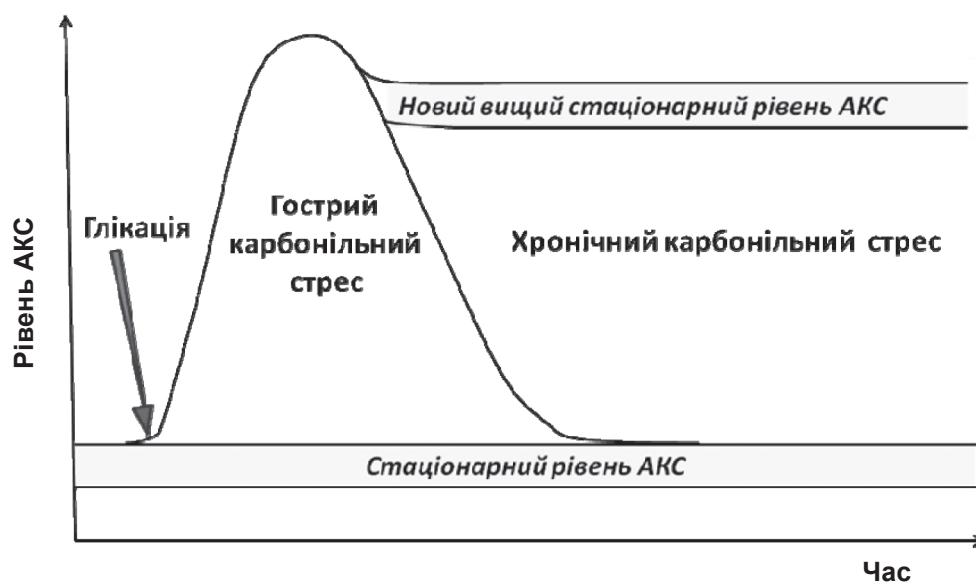
Рис. 4. Кінцеві продукти глікації нуклеїнових кислот *in vivo*

Рис. 5. Розвиток карбонільного стресу в живих організмах (модифіковано за [10, 155])

потужні системи захисту клітини, рівень АКС, який зростає за умов карбонільного стресу, не завжди повертається до вихідного, безпечного рівня. Це спостерігається, наприклад, при цукровому діабеті, серцево-судинних хворобах, захворюваннях печінки та нирок тощо [80, 81]. У зв'язку з цим виникає запитання — які ж рівноважні концентрації АКС у клітині?

У багатьох дослідженнях проводилася оцінка цих параметрів у нормі та при патології. Для прикладу було продемонстровано, що загальна концентрація карбонільних сполук —

продуктів ПОЛ — у плазмі крові здорової людини є нижчою за 1 мкмоль/л [82]. Концентрація фруктозаміну (кетоаміну) в плазмі здорових людей становила близько 140 мкмоль/л [83]. Фізіологічна концентрація метилглюксалю була в межах від 120 до 650 нмоль/л [46, 84]. Слід зазначити, що через відсутність стандартних методик для визначення стаціонарного рівня АКС у роботах різних авторів можна зустріти дані, що суттєво відрізняються. Більше того, величини, знайдені за норми в одних дослідженнях, іноді значно перевищують по-

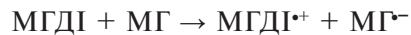
казники, одержані в інших дослідженнях хворих на цукровий діабет. Таким чином, оперуючи тими чи іншими величинами, слід мати на увазі, що вони зазвичай є дуже умовними. Проте, без сумніву, краще мати змогу хоча б відносно оцінити рівноважні концентрації карбонільних сполук, ніж взагалі не мати уяви про їх рівень у живому організмі.

Глікоксидація – процес, який об'єднує карбонільний та оксидативний стрес

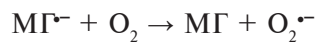
Результати численних досліджень свідчать про тісний взаємозв'язок між процесами глікації та окислення, тому для позначення окислювальних стадій глікації використовують термін «глікоксидація» (glycoxidation) [9], а скорочення КПГ інколи розшифровують як «кінцеві продукти глікоксидації» [85–87].

На рис. 6 представлено найважливіші етапи глікації, пов'язані з утворенням як АКС, так й АФО. У 1950-х роках вперше описано окисні стадії глікації [13, 14], які отримали назву шлях Ходжа (Hodge pathway). Автор запропонував механізм перетворення продуктів Амадори до високореакційних дикарбонільних сполук та АФО. У 1980 році Namiki та Hayashi показали, що окислення основ Шиффа призводить до формування метилглюксалу та глюксалу, а також АФО [88]. Інший окисний етап глікації описали Wolf та колеги у 1991 році [89]. Вони довели, що формування КПГ та АФО можливе внаслідок автоокислення редуруючих вуглеводів за участю іонів металів зі змінною валентністю. На сьогоднішній день можна стверджувати, що всі етапи глікоксидації призводять до утворення АФО. Цікаво, що деякі з цих стадій є спільними з етапами процесу ліпооксидації – хімічної модифікації біомолекул продуктами ПОЛ. Як наслідок ПОЛ, у клітині може зростати рівень α - і β -ненасичених альдегідів, діальдегідів та кетоальдегідів, які можуть ініціювати глікацію. Сформовані за таким механізмом продукти глікації виділяють в окрему підгрупу – кінцеві продукти ліпооксидації (КПЛ) [90]. У свою чергу, КПГ і КПЛ призводять до утворення АФО та АКС [24, 46, 91–93]. Таким чином, якщо в одному з попередніх розділів ми зауважили про утворення, так званого, хибного кола глікації, яке замикалось через АКС, то тут мова йде про утворення подібного циклу глікоксидації через АФО, а також АКС, КПГ та КПЛ (рис. 7). Серед АКС, які утворюються внаслідок глікоксидації та ПОЛ, у першу чергу ідентифіковані метилглюксаль, глюксаль, 4-гідрокси-транс-2-ноненаль, акролеїн та ма-

лоновий альдегід [53]. Щодо АФО, досліджуючи механізм взаємодії метилглюксалу з L-аланіном, Yim та колеги ідентифікували три типи вільних радикалів, які утворюються в цій реакції: метилглюксальдіалкілімін-катион-радикал (МГДІ^{•+}), метилглюксаль-аніон-радикал (МГ^{•-}) і супероксид-аніон-радикал (O₂^{•-}) [91, 92]. Автори припустили, що катион- та аніон-радикали утворюються шляхом одноелектронного перенесення з основи Шиффа (у цьому разі – метилглюксальдіалкіліміну, МГДІ) на метилглюксаль:



У свою чергу, метилглюксаль-аніон-радикал, взаємодіючи з молекулярним киснем, утворює супероксид-аніон-радикал:



Відомо, що автоокислення α -гідрокси-карбонільних сполук, до яких належать деякі моносахариди, продукти їхнього метаболізму та чисельні АКС, призводить до утворення O₂^{•-}. Таке окислення є послідовністю реакцій, в яких супероксид може бути ініціатором і пропагатором процесу [94, 95]. Як відомо, подальше відновлення супероксиду зумовлює утворення інших АФО, зокрема, пероксиду водню та гідроксильного радикалу:



Було показано, що гліцеральдегід, дигідроксіацетон та глікольальдегід проявляють свою токсичність власне через генерацію супероксиду [95].

Взаємодія АФО з вуглеводами призводить до зростання стаціонарного рівня АКС як *in vivo*, так й *in vitro*. Гідроксил-радикал (НО[•]) найчастіше реагує з вуглеводами, що призводить до їхньої оксидативної фрагментації [9, 96]. Відомо, що НО[•] стимулює відщеплення протону від молекул моносахаридів з утворенням карбонільних радикалів. Слід зауважити, що окислення може відбуватися за будь-яким атомом карбону. Цікаво, що взаємодія аскорбінової кислоти з НО[•] призводить до формування дегідроаскорбінової і дикетогулонової кислот, а також глікольальдегіду, дигідроксіацетону, глюксалу і формальдегіду [9, 90, 97]. Подібні процеси можуть спричинювати й інші АФО, зокрема O₂^{•-}. Механізм окислення речовин за участю супероксид-аніон-радикала схожий з механізмом автоокислення вуглеводів, що зазвичай каталізується іонами Fe³⁺ та Cu²⁺ [3]. В обох випадках утворюються енедіол-радикал-аніони. Останні, в свою чергу, можуть окислюватися киснем або супероксидом та ут-

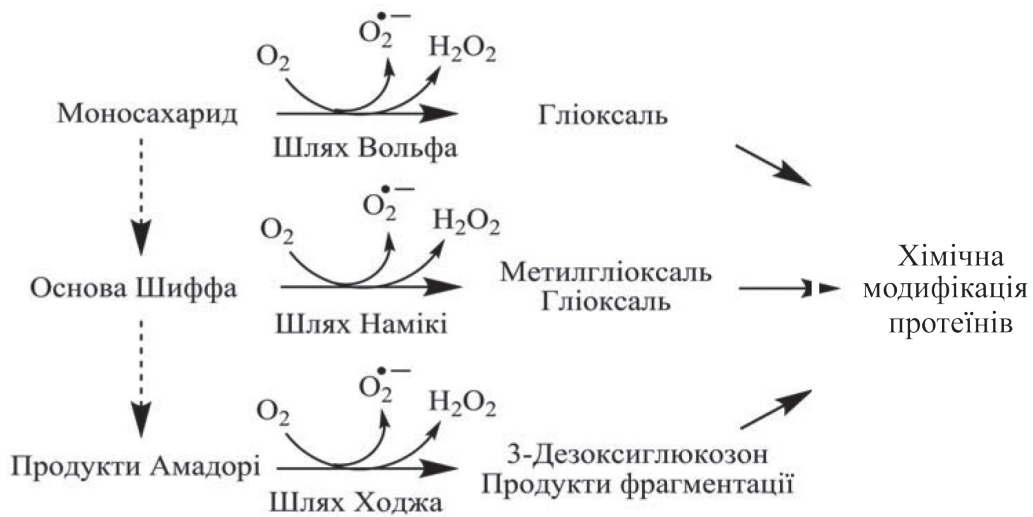


Рис. 6. Утворення дикарбонільних сполук та кінцевих продуктів глікації внаслідок реакції гліюксоксидації

ворювати відповідно $O_2^{\bullet-}$ або H_2O_2 [9, 98–100]. Під час цього формуються дикарбонільні сполуки, які у разі взаємодії з аміногрупами біомолекул продукують АФО і КППГ. Показано, що кетоаміни (продукти Амадори) також здатні вступати в процес гліюксоксидації за участю іонів металів зі змінною валентністю та кисню з формуванням гліюксалю, метилгліюксалю і 3-дезоксиглюкозону та АФО [95].

Ще одним аспектом зв'язку карбонільного та оксидативного стресів є глікація трипепти-

ду глутатіону та ензимів антиоксидантного захисту, яка призводить до зростання у клітині рівня АФО і АКС [101]. Відомо, що внаслідок детоксикації метилгліюксалю та гліюксалю знижується рівень глутатіону *in vivo* [47]. З іншого боку, такі антиоксидантні ензими як супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонредуктаза і глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа можуть піддаватися глікації та втрачати функціональну активність [102, 103]. Чутливість ензимів до глікації залежить від багатьох факторів.

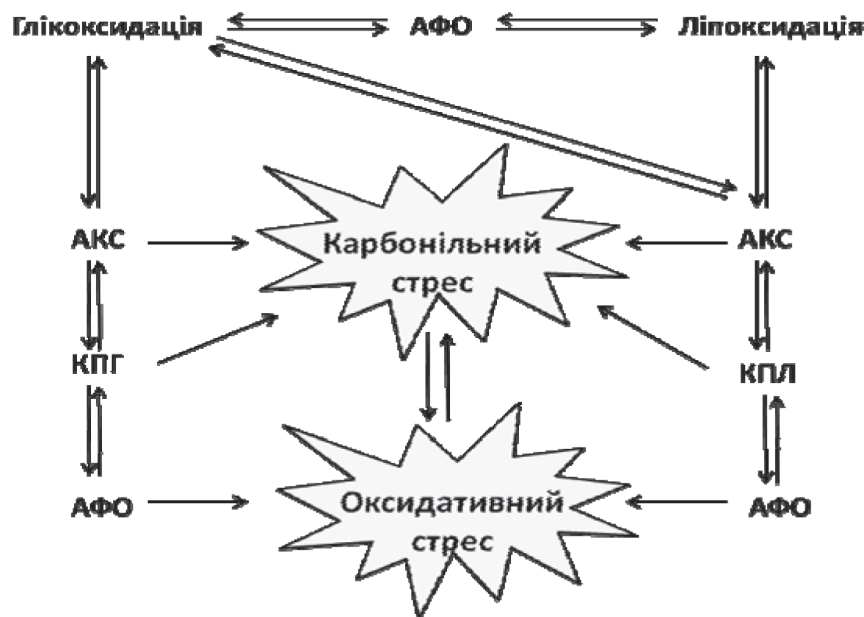


Рис. 7. Взаємозв'язок карбонільного та оксидативного стресів

Серед них виділяють тип агентів глікації, присутність субстратів чи кофакторів, наявність сполук, які запобігають глікації, та активність ензимів, що метаболізують АКС (глюксалази, альдозо/альдегідредуктази, 2-оксоальдегіддегідрогенази тощо). Здатність ензимів до глікації залежить також від їхньої структури, а саме, від кількості і типу амінокислотних залишків [102]. Загалом, глікація антиоксидантних ензимів призводить до зниження ефективності захисних систем, що, в свою чергу, робить клітину вразливішою до дії оксидативного та карбонільного стресів [104].

Із глікооксидацією, а, отже, з утворенням АКС та АФО, тісно пов'язаний метаболізм вуглеводів, що здатні вступати в реакцію Майяра (рис. 8). На користь цього свідчать дані про збільшення рівня АКС за умов стресу, спричиненого високими концентраціями вуглеводів, у клітинах ссавців і дріжджів [20, 105, 106]. Показано, що клітини *E. coli* можуть продукувати метилглюксаль у надлишковій кількості внаслідок дерегуляції транспортування і метаболізму глюкози [106]. В ендотеліальних клітинах бика збільшення рівня метилглюксалу відбувається після їх інкубації із 30 мМ розчином глюкози [107]. Таким чином, токсичність вуглеводів за певних умов пов'язують з утворенням активованих

форм, збільшення концентрації яких призводить до розвитку карбонільного та оксидативного стресів.

Порівняльна характеристика глюкози та фруктози як потенційних факторів глікооксидації

Вище обговорювалась участь моносахаридів у процесі глікації. Слід зазначити, що основна увага дослідників у цьому питанні зосереджена на глюкозі, оскільки вона є основним і найпоширенішим внутрішньо- і зовнішньоклітинним моносахаридом у живих організмах. Добре відомо, що хронічне підвищення концентрації глюкози в крові людей, хворих на цукровий діабет, спричинює збільшення стаціонарного рівня АКС та КПГ, що, у свою чергу, пов'язують із виникненням ускладнень та високої смертності діабетиків [108]. Менше уваги приділяється ролі інших моносахаридів у цих процесах. Проте деякі з них, зокрема фруктоза, є значно активнішими агентами глікації, ніж глюкоза [36, 69, 109]. Останнім часом продовжує зростати споживання харчової фруктози [8, 110]. Це пов'язано з тим, що цей моносахарид у порівнянні з глюкозою швидше включається в метаболізм та не потребує інсуліну для засвоєння. Оскільки більшість дієтологів переконані, що фруктоза є безпечнішою і кориснішою, ніж глюкоза, саме

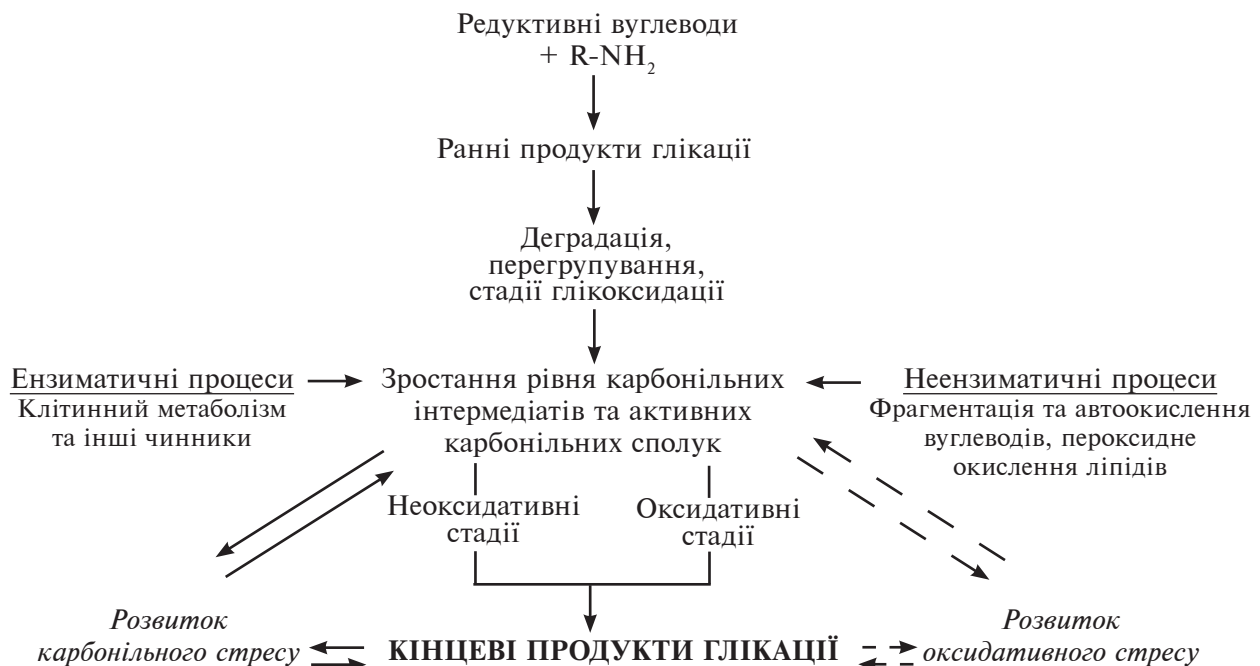


Рис. 8. Загальна схема глікації, утворення кінцевих продуктів глікації в клітині за участю редукуючих вуглеводів (модифіковано за [33])

фруктозу часто пропонують як замітник глюкози для різних категорій населення, особливо для людей, хворих на цукровий діабет. Проте добре відомо про небезпечність тривалого споживання фруктози, яке все частіше пов'язують із розвитком ускладнень при цукровому діабеті, гіпертензії, хворобах нирок, серця, печінки, метаболічному синдромі, ожирінні тощо [8, 103, 108]. Глікоксидація вважається однією із причин виникнення згаданих вище порушень. Зокрема відомо, що підвищений рівень АКС та КППГ, а також пошкодження тканин та органів із високим вмістом колагену, зокрема, судинного ендотелію, нирок, сітківки у свавців в умовах тривалого споживання фруктози найвірогідніше пов'язано із процесами глікоксидації [103]. Подібно до глюкози, фруктоза може брати участь у реакції глікації, внаслідок чого утворюється основа Шиффа (рис. 1). Подальші перетворення, вперше описані Куртом Гейнсом у 1959 р., є реакціями ізомеризації, що призводять до утворення продуктів Гейнса (Heyns products), які досить часто називають продуктами Амадорі [15]. Через подібність перетворень Гейнса і Амадорі чіткої межі між ними у діагностичному аспекті на сьогоднішній день не проводять.

У багатьох організмів добре описаний ендогенний спосіб утворення фруктози, так званий, поліольний шлях [111]. Ключовими ензимами цього шляху є альдозоредуктаза (1.1.1.21), яка перетворює глюкозу на сорбітол, та сорбітолдегідрогеназа (1.1.1.14), яка відновлює сорбітол до фруктози [36, 111]. За концентрації глюкози в крові в межах фізіологічної норми внутрішньоклітинна концентрація сорбітолу є дуже низькою. Проте відомо, що поліольні перетворення активуються внаслідок гіперглікемії. Активність альдозоредуктази та сорбітолдегідрогенази супроводжується збільшенням співвідношення відповідно $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$ та NADH/NAD^+ [63]. Зниження рівня NADPH , що є кофактором для глутатіонредуктази, може призводити до виснаження внутрішньоклітинного пулу відновленого глутатіону, важливого компонента антиоксидантної та гліоксалазної систем. Разом із тим, зростання концентрації NADH спричинює зниження активності гліколітичного ензиму гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази, що призводить до зростання рівня гліцеральдегід-3-фосфату та діоксіацетонфосфату. Обидві тріози є попередниками α -оксіальдегідів [46, 112].

Нещодавно досліджено потенційні механізми розвитку карбонільного стресу

та порівняно вплив глюкози і фруктози на клітини евкаріотів; як модель використано дріжджі *S. cerevisiae* [113, 114]. Показано, що в середовищі культивування, яке містило фруктозу, клітини дріжджів ростуть швидше, характеризуються вищою метаболічною активністю та внутрішньоклітинним вмістом високореакційних α -дикарбонільних сполук та АФО. Загалом одержані результати вказують на вищий рівень маркерів карбонільного та оксидативного стресів у клітинах дріжджів, які росли на фруктозі, що добре узгоджується з нашими спостереженнями щодо їх пришвидшеного старіння та втрати репродуктивної здатності [113, 114].

Слід зауважити, що в дослідженнях в умовах м'якого голодування, обмеження вуглеводів під час тривалого вирощування пекарських дріжджів не виявило суттєвих відмінностей між показниками старіння, карбонільного та оксидативного стресів у клітинах, які росли на глюкозі і фруктозі [113, 114]. Крім того, в залежності від концентрації фруктоза може відігравати подвійну роль у живих клітинах [86, 87]. Нещодавно було встановлено, що дріжджі за короткотривалого вирощування на фруктозі демонструють вищу життєздатність після обробки пероксидом водню, ніж клітини, що росли на глюкозі. Цікаво, що інкубація з пероксидом водню та менадіоном призводила до підвищення загального рівня АФО в клітинах, які культивували на глюкозі, а у клітинах, які нетривалий час росли на фруктозі, цей показник знижувався [115]. У модельних дослідженнях із культурами клітин іншими авторами також було встановлено, що в умовах короткотривалого споживання фруктози, на відміну від глюкози, ефективніше захищає клітину від оксидативного стресу [86, 87]. Грунтуючись на одержаних результатах, дослідники пропонують застосовувати короткотривале включення фруктози в раціон пацієнтів з нейродегенеративними та раковими захворюваннями, атеросклерозом, гострими запальними процесами та іншими патологіями, пов'язаними з розвитком оксидативного стресу.

Обидва ефекти фруктози (цитотоксичний та захисний), на нашу думку, пов'язані з активованими формами – АФО та АКС, які демонструють подвійну роль *in vivo* [23, 37, 82, 115, 116, 118, 119]. Тривале споживання фруктози призводить до глікоксидації, утворення активованих форм, накопичення КППГ, які супроводжують старіння та порушення функцій. З іншого боку, короткотривале споживання

фруктози провокує помірний стрес, стимулює захисний потенціал і дозволяє організму ефективно протистояти дії несприятливих чинників [115].

Подвійна роль карбонільних сполук у живих організмах

Інтерес дослідників до карбонільних сполук зумовлений даними щодо вираженої біологічної активності цих сполук. Слід зауважити, що їхні біологічні ефекти попередньо було виявлено в модельних експериментах, які проводились на мікроорганізмах, а також *in vitro* на культурах клітин. Як наголошувалось у попередньому розділі, активовані форми, що утворюються, зокрема, у процесі глікоксидації, виявляють подвійні ефекти в живих системах [23, 37, 82, 115, 119]. Незважаючи на те, що переважна частина інформації стосується їхньої негативної ролі, глікоксидація та АКС не завжди виявляють негативні ефекти в живому організмі.

Наприклад, АКС, які часто є сильними токсикантами, використовуються багатоклітинними організмами в боротьбі з патогенними бактеріями, вірусами та раковими клітинами. Зокрема, відомо про здатність метилглюксалу інгібувати проліферацію малярійного плазмодія, пригнічувати ріст *Staphylococcus aureus* і *E. coli*, а також патогенних грибів, виявляти противірусну дію, брати участь в активації макрофагів та регуляції імунної відповіді [84]. У 1957 році вперше було продемонстровано, що метилглюксаль виявляє антивірусну активність щодо вірусів ящура, грипу, хвороби Нью-Кастла тощо [84]. Подальше вивчення дії метилглюксалу на культурах клітин показало його участь в інгібуванні пухлинного росту. Згодом антиканцерогенну активність метилглюксалу було підтверджено на тваринах, а у 2001 р. були одержані позитивні результати щодо протиракової активності метилглюксалу в організмі людини [84]. Цікаві дослідження було проведено щодо вивчення складу меду з новозеландського чайного дерева Манука, який застосовується для лікування ран, пригнічує утворення біоплівки, посилює чутливість бактерій до антибіотиків. Виявилось, що 1 кг меду Манука містить від 38 до 761 мг глюксалу та метилглюксалу, що перевищує їх кількості у промисловому меду в середньому в 100 разів [120].

Бактерицидна активність карбонільних сполук використовується фагоцитуючими клітинами. Наприклад, мієлопероксидазарозом із АФО продукує такі АКС, як глікольальдегід,

акролеїн і 2-гідроксипропаналь [6, 23, 121]. У цьому процесі беруть участь вільні амінокислоти (серин, треонін тощо), без окислення яких утворення АКС є практично неможливим. Якщо взяти до уваги, що концентрація вільних амінокислот *in vivo* може сягати 4 мМ [6], то можна припустити, що окислення амінокислот є важливим джерелом АКС у процесі фагоцитозу.

Триває дискусія про сигнальну та регуляторну роль карбонільних сполук. Чи дійсно ці речовини можуть виконувати подібні функції? Якщо взяти до уваги основні критерії сигнальних молекул, то можна припустити, що карбонільні сполуки можуть бути вірогідними кандидатами на цю роль. Як відомо, основною вимогою до сигнальних молекул є їх вільне внутрішньоклітинне та позаклітинне дифундування [122, 123]. Як обговорювалось вище, АКС внаслідок їхніх фізико-хімічних властивостей в повній мірі відповідають цій умові. Проте ще однією важливою вимогою є жорсткий контроль над концентрацією сигнальних молекул *in vivo* [122, 123]. Це означає, що утворення і деградація подібних речовин мають бути збалансованими та здійснюватись переважно ензиматичним шляхом. Саме ця умова й ставила тривалий час під сумнів можливість виконання карбонільними сполуками сигнальної і регуляторної ролі. Проте, як відомо, попри переважне неензиматичне утворення АКС, вони також є продуктами певних ензиматичних реакцій [7, 36, 81, 84, 87, 98, 124, 125]. З іншого боку, АКС деградують у живих організмах також за участю відповідних ензимів, а саме: редуктаз, глюксалаз тощо [36, 87, 107, 124, 126, 127]. Крім того, важливою умовою щодо можливості здійснення сигнальної та регуляторної функції певними речовинами є існування специфічних рецепторів [122, 123]. Серед АФК важливими регуляторними і сигнальними властивостями володіють насамперед супероксид-аніон та пероксид водню, а також монооксиди карбону і нітрогену, сірководень тощо [122, 123, 128–131]. До речі, ця їхня функція також тривалий час дискутувалась.

Слід зауважити, що протягом останнього десятиріччя поступово накопичуються дані, що підтверджують сигнальну та регуляторну роль карбонільних сполук. Зокрема, показано, що інкубація нейтрофілів із метилглюксалем призводить до зростання рівня АФО шляхом р38 MAPK-залежного екзоцитозу. Крім того, АКС, КПП і КПЛ безпосередньо та/або через специфічні рецептори модулюють активність

клітин імунної системи та інших клітин. Зокрема, відомо, що карбонільні сполуки індукують хемотаксис моноцитів, секрецію цитокінів макрофагами, проліферацію клітин судин гладеньких м'язів тощо, відіграючи важливу роль у регуляції імунної відповіді та тканинної репарації [6, 102]. Akhand та колеги показали, що гліюксаль і метилгліюксаль ініціюють два сигнальних шляхи в культурах ендотеліальних клітин людини [132, 133]. Один із них залежить від протеїн-тирозинових кіназ (protein-tyrosine kinases, РТК) та контролює ERK (extracellular signal-regulated kinase), інший – РТК-незалежний – веде до окисно-відновної активації JNK/p38 MAP-кіназ і каспази-3.

Відомо також, що АКС проявляють свою активність на рівні регуляції експресії генів [134]. На відміну від більшості «традиційних» регуляторів, карбонільні сполуки модулюють потік генетичної інформації на всіх рівнях, безпосередньо реагуючи з нуклеїновими кислотами, протеїнами та різноманітними низькомолекулярними сполуками [135, 136]. Наприклад, роз'єднуючі протеїни UCP (uncoupling proteins) тваринних і рослинних клітин, які відомі своїми різноманітними функціями, є вірогідними мішенями для ковалентної взаємодії з 4-гідрокси-транс-2-ноненалем [136]. Регуляція протеїнів теплового шоку теж контролюється АКС, які зокрема спричинюють тримеризацію і наступне зв'язування протеїну HSF1 із ДНК [137].

Серед карбонільних сполук вирізняють, так звані, латентні АКС, концентрації яких у клітині, незважаючи на їхню реакційність, є відносно високими. Наприклад, малоновий альдегід за нейтральних значень рН знаходиться у депротонованій формі і тому є малоактивним. Проте у разі навіть незначного зниження рН утворюється активніша протонувана форма, яка бере участь в індукції захисних систем клітини від зовнішнього стресу [136]. Зокрема, у тварин малоновий альдегід та деякі інші АКС індукують гени, які знаходяться під контролем системи Keap1/Nrf2 і кодують тіоредоксинредуктазу, гемоксигеназу, хінонредуктазу, глутатіон-S-трансферазу, глутатіонредуктазу, глутаредоксин, глутамілцистеїнлігазу тощо [136–138]. Карбонільні сполуки задіяні в регуляції Nrf2 сигналювання в мононуклеарних клітинах периферичної крові людини, що відіграє особливу роль у розвитку певних патологій [139]. Незважаючи на відсутність Keap1/Nrf2 сигнального шляху у *Arabidopsis thaliana*, аналоги щойно згаданих генів у цієї рослини теж індукуються

АКС [136, 140]. У дріжджів *S. cerevisiae* деякі з цих генів входять до регулону, що знаходиться під контролем транскрипційного фактора Yap1, який, у свою чергу, активується пероксидом водню і метилгліюксалем [116, 118, 141].

Останнім часом усе більше інформації з'являється про клітинні рецептори, які специфічно взаємодіють із карбонільними сполуками, що виконують сигнальні функції. У середині 1980-х років вперше було продемонстровано, що *in vitro* макрофаги специфічно розпізнають, захоплюють і деградують КПГ-протеїни [70]. З цього спостереження почався активний пошук високоафінних рецепторів до КПГ у різноманітних клітинах. Першим описаним рецептором був «рецептор до КПГ» (РКПГ) [142]. Сучасні дані свідчать про ідентифікацію рецепторів макрофагів (тип А та В1), галектину-3 (РКПГ3), олігосахарилтрансферази-48 (РКПГ1), та найкраще вивченим є власне РКПГ, мультилігандний рецептор, який належить до надродини імуноглобулінів [134]. Його знайдено на поверхні міоцитів, лімфоцитів, лейкоцитів, нейронів, макрофагів, ендотеліальних клітин і астроцитів [134]. Взаємодія АКС із РКПГ може запускати РКПГ-сигнальний шлях. У ньому залучені ядерний фактор NF-κB та MAP-кінази, такі як ERK S, JNK, Akt та p38 [143]. Взаємодія КПГ із РКПГ макрофагів індукує розвиток оксидативного стресу і активацію ядерного фактора NF-κB через активацію факторів кіназного сигнального шляху p21ras і MAP [87]. NF-κB модулює транскрипцію генів тканинного фактора ендотеліну-1 та тромбомодуліну, призводить до генерації прозапальних цитокінів, таких як інтерлейкін-1α (IL-1α), інтерлейкін-6 (IL-6) і туморнекротичного фактора-α (TNF-α) [144]. Також внаслідок цієї взаємодії підвищується індукція молекул адгезії, включаючи молекули адгезії судин (VCAM-1) і внутрішньоклітинні молекули адгезії (ICAM-1) на додаток до інших ефектів, таких як збільшення проникності судин [125]. Підвищення стаціонарного рівня мРНК NF-κB і гемоксигенази (маркерів оксидативного стресу) внаслідок взаємодії КПГ із РКПГ свідчить про розвиток оксидативного стресу в ендотеліальних клітинах [134]. Це дослідження також довело розвиток оксидативного стресу у тварин після інфузії КПГ. З іншого боку, КПГ можуть впливати на продукцію оксиду азоту (NO) у ретинальних нейронах та у клітинах лінії N-11, подібних до клітин мікроглії [143]. Активація РКПГ веде до активації NADPH-оксидази, що збільшує продукцію супероксид-аніон-радикала [143].

Слід додати, що РКПГ індукується не тільки КППГ, але й іншими лігандами, включаючи S-100-калгрануліни, які є групою прозапальних цитокінів, амфотерином, β -амілоїдом та іншими фібрилярними протеїнами. Відомо, що протеїни S100A8 та S100A9 саме через РКПГ теж здатні активувати NF- κ B та MAP-кінази шляхи сигнальної трансдукції *in vivo* в клітинах раку простати [143]. Інший ліганд РКПГ цього ж класу S100B індукує експресію гену COX-2, посилюючи синтез циклооксигенази-2, який регулює рівень простагландинів. До речі, метилглюксаль теж індукує експресію цього гену та посилює продукцію простагландину 2 (PGE2) [133]. Тобто РКПГ та АКС беруть участь у регуляції запальних процесів. С-реактивний протеїн (CRP) є ключовим маркером регуляції запалення при серцево-судинних захворюваннях, медіатором розвитку атеросклерозу та експресії РКПГ [133].

Експресія РКПГ у клітинах також зростає в процесі старіння, при нейродегенеративних хворобах, остеоартритах, діабеті та його ускладненнях, а також різноманітних метаболічних порушеннях. Останнє пов'язують із хронічним зростанням стаціонарних концентрацій АКС і КППГ, біологічні ефекти яких внаслідок цього суттєво змінюються. У кристалику ока діабетиків рівень метилглюксалю та глюксалю вищий, ніж у здорових людей, що призводить до глікації протеїнів і формування адуктів. Це, в свою чергу, вважається важливим фактором, який супроводжує розвиток катаракти [46]. Показано, що концентрація метилглюксалю зростає в нирках при нирковій недостатності [145]. Це дало змогу вченим припустити, що метилглюксаль відіграє роль уремичного токсину, який сприяє розвитку оксидативного стресу. Підвищення рівня метилглюксалю і 3-дезоксиглюкозону, наприклад, пов'язують із патогенезом нейродегенеративних захворювань, таких як хвороби Альцгеймера, Гентінгтона та аміотропний латеральний склероз [127, 146]. Припускають, що важливу роль у патогенезі відіграє глікація, оскільки апоптоз клітин пошкоджених ділянок головного мозку корелює з високими концентраціями КППГ, накопичених у цих клітинах. Низка досліджень вказує на участь згаданих вище АКС у запуску програмованої клітинної смерті [46].

Глікація ліпідів низької густини призводить до формування атеросклеротичних бляшок та до підвищення загального рівня КППГ у тканинах нирок, що, в свою чергу, може зумовлювати розвиток діабетичної нефропатії [147]. Численні похідні метилглюксалю, зокрема 5-метилімідозалон, ідентифіковано

в різноманітних тканинах організму людини та в атеросклеротичних бляшках аорти [148], а метилглюксальзіиновий димер і карбоксиетиллізин – у колагені старіючої шкіри [68].

Накопичення КППГ із віком активно досліджується в різних модельних системах у разі вивчення механізмів старіння, і на сьогоднішній день вважається, що рівень КППГ є надійним біомаркером старіння та пов'язаних із ним хвороб [71, 85, 149]. На початку 1980-х років Monnier і Cerami вперше постулювали процес глікації як причину старіння та захворювань, пов'язаних із віком, і назвали нову теорію «глікаційна гіпотеза старіння» (glycation hypothesis of aging) [150]. На сьогодні ця теорія є однією з найпопулярніших поряд з теломерною та вільнорадикальною теоріями старіння [12]. Слід зауважити, що взаємозв'язок між АФО і старінням має найбільшу кількість експериментальних підтверджень, і, як обговорювалось вище, взаємодія оксидативного і карбонільного стресів та спільність їхніх ефектів у багатьох випадках є очевидними.

Захист живих організмів від глікації

У нормі рівень АКС *in vivo* знаходиться під жорстким контролем, адже від концентрації карбонільних сполук залежить їх біологічний ефект. Отже, утворення АКС має бути врівноважене процесами їх деградації. Вище ми обговорювали шляхи утворення карбонільних сполук. Які ж механізми їх знешкодження?

З огляду на потенційний шкідливий вплив неензиматичного глікозилювання живі організми мають різноманітні механізми деградації карбонільних сполук. У першу чергу, це шляхи попередження глікації. Зокрема, численні аміни плазми крові можуть реагувати з карбонільними групами вуглеводів, АКС та продуктів Амадорі, попереджаючи утворення КППГ [31]. Крім того, в клітині існують спеціальні механізми захисту аміногруп біомолекул від глікації, наприклад, N-ацетилювання. Відомо, що ацетилсаліцилова кислота запобігає зниженню активності ензимів, зумовленому процесами глікації в мишей з індукованим цукровим діабетом [102].

Якщо ж небажану глікацію попередити неможливо, і рівень АКС перевищує норму, то їх катаболізм забезпечується ензиматичними реакціями. До них належать реакції окислення, відновлення і кон'югації, в яких залучені такі ензими, як альдегід- та алкогольдегідрогенази, альдо-кеторедуктази, карбонілредуктази, цитохром P-450, глутатіон-S-трансферази тощо

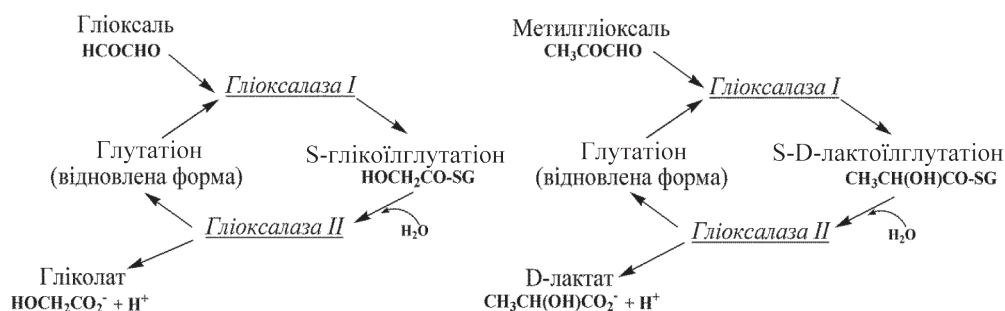


Рис. 9. Гліоксалазна система знешкодження гліоксалу та метилгліоксалу

[24, 151]. Внаслідок цих реакцій АКС та частково КПГ перетворюються на менш токсичні продукти і екскретуються з організму.

Найкраще вивченими серед інших катаболічних шляхів АКС є перетворення α -оксіальдегідів на α -гідроксикислоти, яке каталізується гліоксалазною системою, знайденою у бактерій, грибів, найпростіших, рослин, тварин та в людей [23, 24, 152]. До гліоксалазної системи належать два ензими: гліоксалаза I (Glo I) та гліоксалаза II (Glo II), які використовують відновлений глутатіон для катаболізму АКС (рис. 9). Окрім гліоксалазної системи важливу функцію детоксикації АКС у різноманітних організмах, від бактерій до людини, відіграють амадоріази [126, 153]. Ці ензими каталізують окисну деглікацію продуктів Амадори, утворюючи відповідні амінокислоти, глюкозони та пероксид водню (рис. 10). Численні редуктази та дегідрогенази теж належать до системи захисту від АКС та карбонільного стресу [27]. Зокрема, 3-дезоксиглюкозондегідрогеназа, 3-дезок-

сиглюкозонредуктаза ефективно знешкоджують 3-дезоксиглюкозон (рис. 11). Як бачимо, в багатьох випадках ензиматичні системи потребують відновлених коензимів та глутатіону, тому збереження необхідного рівня відновних еквівалентів є важливим фактором попередження глікації біомолекул. За певних захворювань, пов'язаних із розвитком оксидативного стресу, а також старінням, активність гліоксалаз та редуктаз може знижуватись, зокрема за рахунок виснаження відновленого глутатіону та NADPH [63, 68, 152, 154].

У цьому та іншому разі, коли в організмі накопичуються КПГ та КПГ-адукти, надзвичайно важливу роль у деградації модифікованих глікацією біомолекул відіграють нуклеази, протеази, ліпази тощо. Рецептори до КПГ на макрофагах забезпечують знешкодження КПГ шляхом ендоцитозу [31]. Цікаво, що такі поширені у природі сполуки, як карнозин, аскорбінова кислота, флавоноїди є активними антиглікуючими агентами, які сприяють відновленню активності глікованих біомолекул

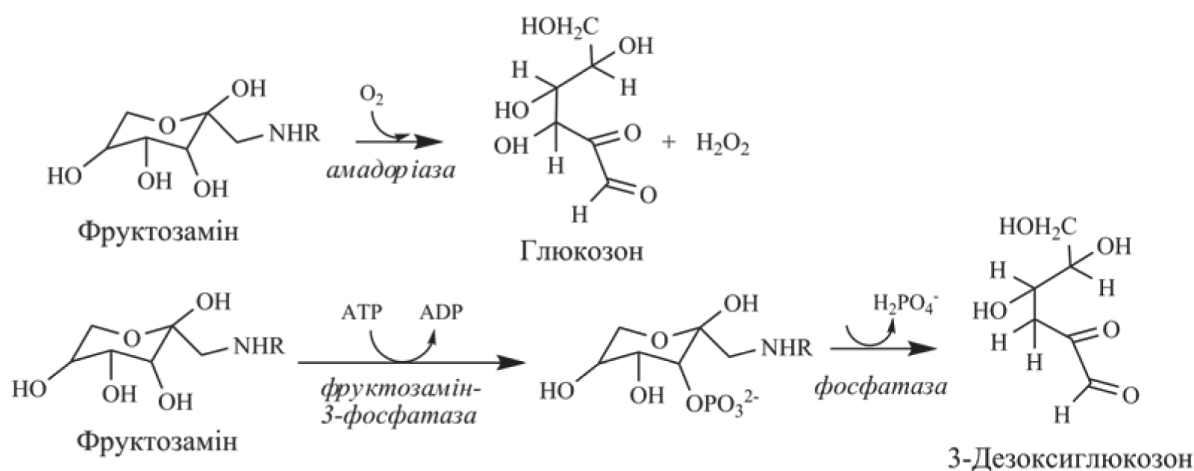


Рис. 10. Ензиматичні шляхи знешкодження фруктозамінів

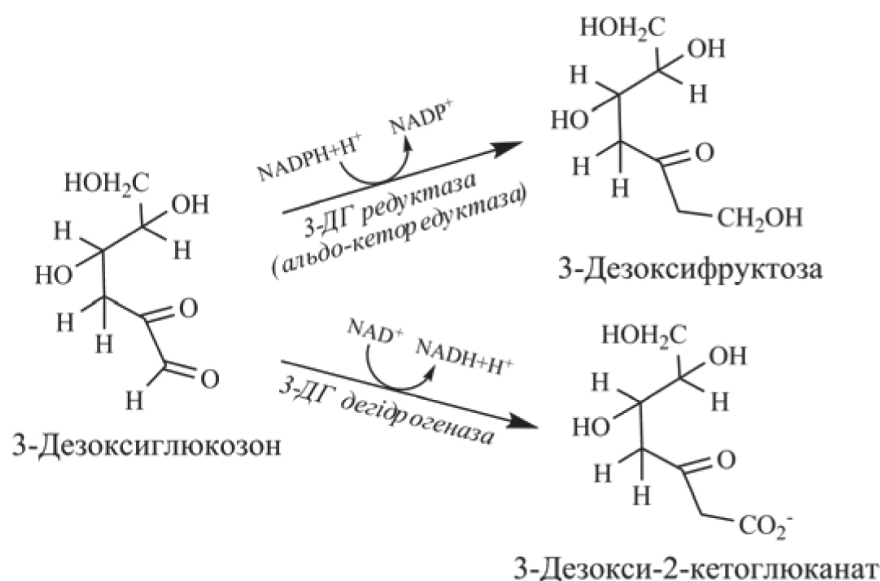


Рис. 11. Ензиматичні шляхи знешкодження 3-дезоксиглюкозону.

[3, 25, 102]. Крім того, щойно згадані речовини характеризуються вираженою антиоксидантною функцією. Назагал, антиоксиданти є важливим компонентом захисту від АФО, які утворюються у процесі глікації. Церулоплазмін і трансферин можуть зв'язувати іони металів зі змінною валентністю, попереджаючи, тим самим, процеси глікоксидації [31]. Деякі екзогенні інгібітори глікації знижують рівень α -дикарбонільних сполук [124]. Серед них аміногуанідин, який захищає клітини від токсичного впливу еритрози шляхом формування похідних гідразину або шляхом перетворень продуктів окислення еритрози (дикарбонілів) до асиметричних триазинів [31].

Численні експериментальні роботи скеровані на пошук препаратів, які б мали здатність інгібувати глікацію біомолекул [31, 64, 70, 102]. Можна виділити деякі напрями у пошуку ефективних способів запобігання глікації, що ґрунтуються на таких механізмах захисту:

- 1) блокування вільних аміногруп біомолекул та/або карбонільних груп агентів глікації; 2) знешкодження АКС ензиматичними системами; 3) хелатування іонів металів зі змінною валентністю; 4) знешкодження дикарбонільних агентів (аміногуанідин) та деградація КППГ (алагебріум, фенацилтіазоліумбромід, метформін); 5) використання специфічних антитіл до продуктів Амадори та КППГ; 6) блокування рецепторів до КППГ для попередження запальних процесів та розвитку діабетичних ускладнень; 7) застосу-

вання антиоксидантів для захисту від АФО, які утворюються в процесах глікоксидації.

Захист дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* від глікації

Дріжджі ефективно застосовують як модель у вивченні різноманітних молекулярних механізмів, оскільки багато з них, назагал, є подібними до знайдених у вищих еукаріотів [10, 76, 117, 118, 155, 156]. Зокрема, *S. cerevisiae* є популярною модельною системою у вивченні метаболічних порушень і механізмів старіння [117, 157]. Це пов'язано насамперед з тим, що ця модель має перед іншими низку суттєвих переваг: 1) дріжджі *S. cerevisiae* є одночасно клітинною та організменною еукаріотичною модельною системою; 2) вони мають відносно малий геном, який повністю розшифровано; 3) існують тісні гомологічні зв'язки між дріжджами та вищими еукаріотами (для прикладу, висококонсервативний TOR сигнальний шлях вперше був описаний у пекарських дріжджів); 4) дріжджі вирізняються високою інтенсивністю метаболізму та високою швидкістю росту і старіння; 5) ріст та старіння дріжджів легко визначаються та контролюються зовнішніми факторами; 6) дослідження на модельній системі *S. cerevisiae* мають важливе практичне значення в системі загальнобіологічних знань, біотехнології, медицині тощо.

Показано, що у *S. cerevisiae* є гени, аналогічні до генів людини, які задіяні у патогенезі різних захворювань (*human*

disease genes) [158]. Дріжджі використовують для вивчення впливу на клітини еукаріотів різноманітних зовнішніх факторів та потенційно токсичних метаболітів, зокрема АФО та АКС, а також глікації і карбонілювання окремих протеїнів [10, 159, 160]. Пекарські дріжджі вирізняються високою гліколітичною активністю і, як наслідок, високою інтенсивністю глікації та потужною антиглікаційною системою.

Такі моносахариди, як глюкоза та фруктоза, є природними джерелами карбону для дріжджів. Показано, що відмінності між транспортуванням глюкози і фруктози у клітини *S. cerevisiae* незначні [161]. У дріжджів транспорт гексоз відбувається переважно шляхом полегшеної дифузії за рахунок транспортерів, протеїнів родини НХТ (Нхт 1-4, Нхт 6-7), які відрізняються між собою кінетичними властивостями і способом регуляції [130, 161]. Основна частина вуглеводів, які потрапляють у клітину, включається у гліколіз. Відомо, що процеси глікації у дріжджів та багатоклітинних організмів загалом є подібними. Агенти глікації та карбонільні інтермедіати формуються внаслідок спонтанного неензиматичного глікозилювання, автоокислення моносахаридів, а також як побічні продукти гліколітичного шляху та в умовах оксидативного стресу [162]. За даними Ponces Freire та інших, утворення метилглюксалу в клітинах *S. cerevisiae* як побічного продукту гліколізу становить 0,1–0,3% від загальної кількості гліколітичних метаболітів [78]. У нещодавніх дослідженнях Gomes та колег було показано, що у дріжджів найчастіше піддаються глікації такі ензими, як енолаза, альдолаза, фосфогліцератмутаза та протеїни теплового шоку [159]. Також встановлено, що гомологічні протеїни бактерій, мух, рослин та людини теж є мішенями глікації [160].

На клітинах дріжджів добре вивчено ензиматичні шляхи знешкодження метилглюксалу. За участю ензиму метилглюксальредуктази (1.1.1.283) він перетворюється на лактальдегід [47, 163]. В альдозоредуктазному шляху метилглюксаль відновлюється до 1,2-пропандіолу за участю коензиму NADPH і ензиму альдозоредуктази (1.1.1.21), яка кодується геном *GRE3* [47, 105, 106]. Одним із найважливіших і найкраще вивчених механізмів захисту пекарських дріжджів від метилглюксалу та інших α -дикарбонілів є глюксалазна система (рис. 9). До неї входять два ензими: глюксалаза I (SD-лактоїлглютатонліаза, 4.4.1.5) і глюксалаза II

(гідроксіяцилглютатонгідролаза, 3.1.2.6). У присутності відновленого глутатіону глюксалазним шляхом метилглюксаль перетворюється на D-лактат, а глюксаль – на гліколат [25, 34, 164]. Структурним геном, що кодує глюксалазу I у *S. cerevisiae*, є *GLO1* [43, 159]. Відомо, що експресія *GLO1* індукується осмотичним стресом і регулюється високоосмолярним гліцерольним шляхом відповіді, головним сигнальним каскадом, який здійснює регуляцію відповідних генів [141, 165]. Це свідчить про наявність ефективного захисту дріжджів від стресу, який зумовлюють високі концентрації вуглеводів. Мутантні штами *S. cerevisiae* з генетичним дефектом *GLO1*, а також штами, дефектні за *GSH1* (γ -глутамілцистеїнліаза), демонструють гіперчутливість до метилглюксалу [43]. Глюксалаза II представлена у пекарських дріжджів двома ізоензимами, які кодуються генами *GLO2* і *GLO4* [166]. Показано, що експресія *GLO2* зростає у присутності глюкози або гліцеролу, а *GLO4* експресується тільки у відповідь на дію гліцеролу [43, 166].

Цікаво, що інкубація дріжджів із метилглюксалем спричинює активацію транскрипційних факторів Yap1 та Msn2/4 [112, 116], однією з найважливіших функцій яких у дріжджів є регуляція антиоксидантного захисту [43, 118, 141]. Цей факт ще раз вказує на тісний взаємозв'язок карбонільного та оксидативного стресів у живих організмів.

Підсумки та перспективи

Глікація *in vivo* є складним комплексом спонтанних перетворень і взаємодій, що супроводжуються появою та накопиченням у клітинах активних інтермедіатів та адуктів протеїнової, ліпідної чи нуклеотидної природи. Ці процеси перебігають у живих системах постійно та ініціюються ендогенними та екзогенними чинниками. Особливий інтерес для вивчення мають АКС та КПГ. У свою чергу, переважання процесів утворення АКС та КПГ над процесами їхньої деградації може призводити до розвитку карбонільного стресу. На сьогодні вдалося значно розширити розуміння явища неензиматичного глікозилювання та показати його взаємозв'язок із метаболізмом клітин та процесами вільнорадикального окислення. Проте дослідження неензиматичного глікозилювання за фізіологічних умов тривають. Не до кінця з'ясовано клітинні та імунологічні аспекти глікації. Продовжується робота над ідентифікацією мішеней глікації та вивченням спорідненості клітинних

компонентів до пошкоджень різними агентами глікації. Нерозкритою залишається роль процесів глікації в загальній системі біохімічних реакцій та старінні клітин. Незважаючи на близькість, глікаційна теорія старіння ще потребує узгодження з вільнорадикальною теорією. Більшість експериментів цього напрямку було проведено на клітинних чи тканинних моделях *in vitro*. Тому експерименти *in vivo* на різноманітних об'єктах можуть розширити уявлення про особливості глікації та значення окремих її етапів у фізіологічних умовах.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ НЕЭНЗИМАТИЧЕСКОГО ГЛИКОЗИЛИРОВАНИЯ

Л. М. Лозинская, Г. Н. Семчишин

Прикарпатский национальный университет имени Василя Стефаника, Ивано-Франковск, Украина; e-mail: semchyshyn@pu.if.ua

Неэнзиматические процессы в целом играют неоднозначную роль в живых организмах. Известно, что неэнзиматическое гликозилирование может приводить к нарушению структуры и функционирования биомолекул, и, тем самым, инициировать развитие, а также сопровождать различные заболевания. С другой стороны, продукты неэнзиматических реакций при определенных условиях могут выполнять роль сигнальных молекул и участвовать в формировании иммунного ответа. В работе обобщены современные данные об особенностях неэнзиматического гликозилирования и карбонильного стресса в живых организмах. Отражено участие активных карбонильных соединений и редуцирующих углеводов в гликании биомолекул, роль неэнзиматического гликозилирования в развитии карбонильного стресса и связь гликании со свободнорадикальными процессами. Обобщены основные пути предупреждения гликании и защиты организмов от карбонильного стресса, обусловленного неэнзиматическим гликозилированием. Отдельный раздел посвящен роли дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* как модельной системы в изучении процессов гликании *in vivo*.

Ключевые слова: неэнзиматическое гликозилирование, активные карбонильные соединения, конечные продукты гликании, карбонильный стресс, окислительный стресс, редуцирующие углеводы, *Saccharomyces cerevisiae*.

BIOLOGICAL ASPECTS OF NON-ENZYMATIC GLYCOSYLATION

L. M. Lozinska, H. M. Semchyshyn

Vassyl Stefanyk Precarpathian National University, Ivano-Frankivsk, Ukraine; e-mail: semchyshyn@pu.if.ua

Summary

Non-enzymatic reactions commonly play an ambiguous role in living organism. It is well known that non-enzymatic glycosylation may lead to disruption of the structure and function of biomolecules, thus initiating the development and accompanying different diseases. On the other hand, under certain conditions the products of non-enzymatic glycosylation act as signaling molecules and play an important role in the immune response. Data concerning the influence of non-enzymatic glycosylation and carbonyl stress on living organisms are summarized in the work. The role of reactive carbonyl compounds and reducing carbohydrates in glycation of biomolecules, involvement of non-enzymatic glycosylation in carbonyl stress development and interplay between glycation and free radical processes in living organisms are summarized. The basic ways to prevent glycation and formation of reactive carbonyl compounds that induce carbonyl stress are highlighted. Special attention is paid to the role of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a model system to study the glycation processes *in vivo*.

Key words: non-enzymatic glycosylation, reactive carbonyl compounds, advanced glycation end products, carbonyl stress, oxidative stress, reducing carbohydrates, *Saccharomyces cerevisiae*.

1. Ahmed N., Argirov O. K., Minhas H. S. et al. // Biochem. J. — 2002. — **364**, N 1. — P. 1–14.
2. Brownlee M. // Metabolism. — 2000. — **49**, N 2. — P. 9–13.
3. Cho S. J., Roman G., Yeboah F. et al. // Curr. Med. Chem. — 2007. — **14**, N 15. — P. 1653–1671.
4. Thornalley P. J. // Ann. N. Y. Acad. Sci. — 2005. — **1043**. — P. 111–117.
5. Yang K., Feng C., Lip H. Y. et al. // Chem. Biol. Interact. — 2011. — **191**, N 1–3. — P. 315–321.
6. Amore A., Coppo R. // Nephrol. Dial. Transplant. — 2002. — **17**, N 8. — P. 16–24.
7. Capuano E., Fogliano V. // LWT Food Sci. Technol. — 2011. — **44**, N 4. — P. 793–810.

8. Tappy L., Lê K. A., Tran C., Paquot N. // Nutrition – 2010. – **26**, N 11–12. – P. 1044–1049.
9. d'Ischia M., Manini P., Napolitano A. / In: Singh K. (eds.), Oxidative Stress, Disease and Cancer. – London: Imperial College Press. – 2006. – P. 333–357.
10. Semchyshyn H. M., Lushchak V. I. / In book: Oxidative Stress – Molecular Mechanisms and Biological Effects, editors: Lushchak V. I. & Semchyshyn H. M., InTech, – 2012. – P. 15–46.
11. Maillard L. C. // C. R. Acad. Sci. – 1912. – **154**. – P. 66–68.
12. Ulrich P., Cerami A. // Recent Prog. Horm. Res. – 2001. – **56**, N 1. – P. 1–21.
13. Hodge J. E. // Adv. Carbohydr. Chem. – 1955. – **10**. – P. 169–205.
14. Hodge J. E. // J. Agric. Food Chem. – 1953. – **1**, N 15. – P. 928–939.
15. Tessier F. // Pathol. Biol. (Paris). – 2010. – **58**, N 3. – P. 214–219.
16. Rahbar S. // Clin. Chim. Acta. – 1968. – **20**, N 3. – P. 381–385.
17. Rahbar S., Blumenfeld O., Ranney H. M. // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 1969. – **36**, N 5. – P. 838–843.
18. Занозина О. В., Боровков Н. Н., Щербатюк Т. Г. // Совр. технол. в мед. – 2010. – **3**. – С. 104–112.
19. Blakytny R., Harding J. J. // Biochem. J. – 1992. – **288**, N 1. – P. 303–303.
20. Brownlee M. // Annu. Rev. Med. – 1995. – **46**. – P. 223–234.
21. Giaccari A., Sorice G., Muscogiuri G. // Nutrit. Metab. Cardiovasc. – 2009. – **19**, N 5. – P. 365–377.
22. Yatscoff R., Tevaarwerk G., MacDonald J. // Clin. Chem. – 1984. – **30**, N 3. – P. 446–449.
23. Semchyshyn H. M., Bayliak M. M., Lushchak V. I. / In book: Biology of Starvation in Humans and Other Organisms, editor: T. C. Merkin. – 2011. – P. 103–150.
24. Ellis E. M. // Pharmacol. Ther. – 2007. – **115**, N 1. – P. 13–24.
25. Peng X., Ma J., Chen F., Wang M. // Food Funct. – 2011. – **2**, N 6. – P. 289–301.
26. Robert L., Robert A., Labat–Robert J. // Pathol. Biol. (Paris). – 2011. – **59**, N 6. – P. 321–328.
27. Thornalley P. J. // Drug Metabol. Drug Interact. – 2008. – **23**, N 1–2. – P. 125–150.
28. Rabbani N., Thornalley P. J. // Biochem. Soc. Trans. – 2008. – **36**, N 5. – P. 1045–1050.
29. Gugliucci A. // J. Am. Osteopath. Assoc. – 2000. – **100**, N 10. – P. 621–621.
30. Turk Z. // Physiol. Res. – 2010. – **59**, N 2. – P. 147–156.
31. Ahmed N. // Diabetes Res. Clin. Pract. – 2005. – **67**, N 1. – P. 3–21.
32. Voziyan P. A., Metz T. O., Baynes J. W., Hudson B. G. // Biochem. J. – 2002. – **277**, N 5. – P. 3397–3397.
33. Wondrak G. T., Cervantes–Laurean D., Roberts M. J. et al. // Biochem. Pharm. – 2002. – **63**, N 3. – P. 361–373.
34. Glomb M. A., Monnier V. M. // Biochem. J. – 1995. – **270**, N 17. – P. 10017–10026.
35. Dills W. L. // Am. J. Clin. Nutr. – 1993. – **58**, N 5. – P. 779S–787S.
36. Sakai M., Oimomi M., Kasuga M. // Kobe J. Med. Sci. – 2002. – **48**, N 5–6. – P. 125–136.
37. Pamplona R. // Biochim. Biophys. Acta. – 2008. – **1777**, N 10. – P. 1249–1262.
38. Pamplona R. // Chem. Biol. Interact. – 2011. – **192**, N 1–2. – P. 14–20.
39. Thornalley P. J. // Int. Rev. Neurobiol. – 2002. – **50**. – P. 37–57.
40. Liu X., Zhu M., Xie J. // Toxicol. Mech. Methods. – 2010. – **20**, N 1. – P. 36–44.
41. Trotter E. W., Collinson E. J., Dawes I. W., Grant C. M. // Appl. Environ. Microbiol. – 2006. – **72**, N 7. – P. 4885–4892.
42. Uribarri J., Cai W., Peppas M. et al. // J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci. – 2007. – **62**, N 4. – P. 427–433.
43. Inoue Y., Maeta K., Nomura W. // Semin. Cell Dev. Biol. – 2011. – **22**, N 3. – P. 278–284.
44. Nemlet I., Varga Defterdarovi L., Turk Z. // Mol. Nut. Food Res. – 2006. – **50**, N 12. – P. 1105–1117.
45. Chang Q., Harter T. M., Rikimaru L. T. et al. // Chem. Biol. Interact. – 2003. – **143–144**. – P. 325–332.
46. Kalapos M. P. // Ibid. – 2008. – **171**, N 3. – P. 251–271.
47. Kalapos M. P. // Toxicol. Lett. – 1999. – **110**, N 3. – P. 145–175.
48. Murata–Kamiya N., Kamiya H., Kaji H., Kasai H. // Nucleic Acids Symp. Ser. (Oxf). – 2000. – N 44. – P. 3–4.
49. Richard J. P. // Biochem. Soc. Trans. – 1993. – **21**, N 2. – P. 549–553.
50. Abordo E. A., Minhas H. S., Thornalley P. J. // Biochem. Pharm. – 1999. – **58**, N 4. – P. 641–648.
51. Novotný O., Cejpek K., Velišek J. // Czech J. Food Sci. – 2007. – **25**, N 3. – P. 119–130.
52. Fu M. X., Requena J. R., Jenkins A. J. et al. // Biochem. J. – 1996. – **271**, N 17. – P. 9982–9982.

53. Krone G., Dalle-Donne I., Facino R. M. et al. // *Med. Res. Rev.* – 2007. – **27**, N 6. – P. 817–868.
54. Lushchak V. I., Gospodaryov D. V. // *Cell. Bio. Int.* – 2005. – **29**, N 3. – P. 187–192.
55. Mano J. // *Plant Physiol. Biochem.* – 2012. doi:10.1016/j.plaphy.2012.03.010.
56. Zimniak P. // *Ageing Res. Rev.* – 2008. – **7**, N 4. – P. 281–300.
57. Zimniak P. // *Free Radic. Biol. Med.* – 2011. – **51**, N 6. – P. 1087–1105.
58. Семчишин Г. М., Лушчак В. І. // *Укр. біохім. журн.* – 2004. – **76**, № 2. – С. 31–42.
59. Demple B. // *Annu. Rev. Genet.* – 1991. – **25**, N 1. – P. 315–337.
60. Lushchak V. I. // *Biochemistry (Mosc.)* – 2001. – **66**, N 5. – P. 476–489.
61. Uchida K. // *Free Rad. Biol. Med.* – 2000. – **28**, N 12. – P. 1685–1696.
62. Mossine V. V., Mawhinney T. P. // *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* – 2010. – **64**. – P. 291–402.
63. Schalkwijk C. G., Stehouwer C. D. A., van Hinsbergh V. W. M. // *Diabetes Metab. Res. Rev.* – 2004. – **20**, N 5. – P. 369–382.
64. Monnier V. M. // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2003. – **419**, N 1. – P. 1–15.
65. Dyer D. G., Blackledge J. A., Thorpe S. R. et al. // *Biochem. J.* – 1991. – **266**, N 18. – P. 11654–11660.
66. Oya T., Hattori N., Mizuno Y. et al. // *Ibid.* – 1999. – **274**, N 26. – P. 18492–18502.
67. Shipanova I. N., Glomb M. A., Nagaraj R. H. // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1997. – **344**, N 1. – P. 29–36.
68. Singh R., Barden A., Mori T. et al. // *Diabetologia.* – 2001. – **44**, N 2. – P. 129–146.
69. Robert L., Labat-Robert J., Robert A. M. // *Pathol. Biol. (Paris).* – 2010. – **58**, N 3. – P. 200–206.
70. Vlassara H., Brownlee M., Cerami A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1985. – **82**, N 17. – P. 5588.
71. Baynes J. W. // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2002. – **959**, N 1. – P. 360–367.
72. Freire A. P., Ferreira A., Gomes R. et al. // *Biochem. Soc. Trans.* – 2003. – **31**, N 6. – P. 1409–1412.
73. Shangari N., O'Brien P. J. // *Biochem. Pharm.* – 2004. – **68**, N 7. – P. 1433–1442.
74. Requena J. R., Ahmed M. U., Fountain C. et al. // *Biochem. J.* – 1997. – **272**, N 28. – P. 17473–17473.
75. Zeng J., Davies M. J. // *Chem. Res. Toxicol.* – 2005. – **18**, N 8. – P. 1232–1241.
76. Lushchak V. I. // *Acta Bioch. Pol.* – 2006. – **53**, N 4. – P. 679–684.
77. Mironova R., Niwa T., Handzhiyski Y. et al. // *Mol. Microbiol.* – 2005. – **55**, N 6. – P. 1801–1811.
78. Ponces Freire A., Ferreira A., Gomes R. et al. // *Biochem. Soc. Trans.* – 2003. – **31**, N 6. – P. 1409–1412.
79. Yamauchi Y., Furutera A., Seki K. et al. // *Plant Physiol. Biochem.* – 2008. – **46**, N 8–9. – P. 786–793.
80. Miyata T., de Strihou C. Y., Kurokawa K., Baynes J. W. // *Kidney Internat.* – 1999. – **55**, N 2. – P. 389–399.
81. Miyata T., Kurokawa K., Van Ypersele De Strihou C. // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 2000. – **11**, N 9. – P. 1744–1752.
82. Niki E. // *Free Radic. Biol. Med.* – 2009. – **47**, N 5. – P. 469–484.
83. Kato M., Nakayama H., Makita Z. et al. // *Horm. Metab. Res.* – 1989. – **21**, N 5. – P. 245–248.
84. Talukdar D., Chaudhuri B. S., Ray M., Ray S. // *Biochemistry (Moscow).* – 2009. – **74**, N 10. – P. 1059–1069.
85. Baynes J. W. // *Exp. Gerontol.* – 2001. – **36**, N 9. – P. 1527–1537.
86. Spasojević I., Bajić A., Jovanović K. et al. // *Carbohydr. Res.* – 2009. – **344**, N 13. – P. 1676–1681.
87. Spasojevic I., Mojovic M., Blagojevic D. et al. // *Ibid.* – N 1. – P. 80–84.
88. Hayashi T., Namiki M. // *Agric. Biol. Chem.* – 1980. – **44**. – P. 2575–2580.
89. Wolff S. P., Jiang Z. Y., Hunt J. V. // *Free Radic. Biol. Med.* – 1991. – **10**, N 5. – P. 339–352.
90. Krone C. A., Ely J. T. A. // *Med. Hypotheses.* – 2004. – **62**, N 2. – P. 275–279.
91. Yim H. S., Kang S. O., Hah Y. C. et al. // *Biochem. J.* – 1995. – **270**, N 47. – P. 28228–28233.
92. Yim M. B., Kang S. O., Chock P. // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2000. – **899**, N 1. – P. 168–181.
93. Ланкин В. З., Тихазе А. К., Капелько В. И. и др. // *Биохимия.* – 2007. – **72**, № 10. – С. 1330–1341.
94. Benov L., Veema A. F., Sequeira F. // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2003. – **1622**, N 2. – P. 128–132.
95. Benov L., Fridovich I. // *Biochem. J.* – 1998. – **273**, N 40. – P. 25741–25744.
96. Gilbert B. C., Smith J. R. L., Taylor P. et al. // *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2.* – 2000. – N 10. – P. 2001–2007.
97. Mlakar A., Batna A., Dudda A., Spiteller G. // *Free Rad. Res.* – 1996. – **25**, N 6. – P. 525–539.
98. Hunt J. V., Dean R. T., Wolff S. P. // *Biochem. J.* – 1988. – **256**, N 1. – P. 205–205.

99. Okado-Matsumoto A., Fridovich I. // *Ibid.* – 2000. – **275**, N 45. – P. 34853–34857.
100. Wolff S. P., Dean R. T. // *Ibid.* – 1987. – **245**, N 1. – P. 243–250.
101. Linetsky M., Shipova E. V., Argirov O. K. // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2006. – **449**, N 1–2. – P. 34–46.
102. Seidler N. W. // *Curr. Enz. Inhib.* – 2005. – **1**, N 1. – P. 21–27.
103. Yan H., Harding J. J. // *Biochem. J.* – 1997. – **328**, N 2. – P. 599–599.
104. Kalapos M. P., Littauer A., qde Groot H. // *Arch. Toxicol.* – 1993. – **67**, N 5. – P. 369–372.
105. Aguilera J., Prieto J. A. // *Curr. Genet.* – 2001. – **39**, N 5–6. – P. 273–283.
106. Aguilera J., Prieto J. A. // *FEMS Yeast Res.* – 2004. – **4**, N 6. – P. 633–641.
107. Shinohara M., Thornalley P. J., Giardino I. et al. // *J. Clin. Invest.* – 1998. – **101**, N 5. – P. 1142–1147.
108. Johnson R. J., Segal M. S., Sautin Y. et al. // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2007. – **86**, N 4. – P. 899–906.
109. Dong Q., Yang K., Wong S. M. et al. // *Chem. Biol. Interact.* – 2010. – **188**. – P. 31–37.
110. Gaby A. R. // *Alternat. Med. Rev.* – 2005. – **10**, N 4. – P. 294–306.
111. Hamada Y., Araki N., Koh N. et al. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1996. – **228**, N 2. – P. 539–543.
112. Inoue Y., Kimura A. // *Adv. Microb. Physiol.* – 1995. – **37**. – P. 177–227.
113. Лозінська Л. М., Семчишин Г. М. // *Укр. біохім. журн.* – 2011. – **83**, № 4. – С. 67–76.
114. Semchyshyn H. M., Lozinska L. M., Miedzobrodzki J. et al. // *Carbohydr. Res.* – 2011. – **346**, N 7. – P. 933–938.
115. Semchyshyn H., Lozinska L. // *FEMS Yeast Res.* – 2012. – doi: 10.1111/j.1567-1364.2012.00826.x.
116. Maeta K., Izawa S., Okazaki S. et al. // *Mol. Cell. Biol.* – 2004. – **24**, N 19. – P. 8753–8764.
117. Fabrizio P., Longo V. D. // *Aging Cell.* – 2003. – **2**, N 2. – P. 73–81.
118. Semchyshyn H. // *Cent. Eur. J. Biol.* – 2009. – **4**, N 2. – P. 142–153.
119. Radu B. M., Dumitrescu D. I., Mustaciosu C. C. et al. // *Cell. Mol. Neurobiol.* – 2012. – P. 1–11.
120. Mavric E., Wittmann S., Barth G. et al. // *Mol. Nutr. Food Res.* – 2008. – **52**, N 4. – P. 483–489.
121. Anderson M. M., Hazen S. L., Hsu F. F., Heinecke J. W. // *J. Clin. Invest.* – 1997. – **99**, N 3. – P. 424–432.
122. Bartosz G. // *Biochem. Pharmacol.* – 2009. – **77**, N 8. – P. 1303–1315.
123. Forman H. J., Maiorino M., Ursini F. // *Biochemistry.* – 2010. – **49**, N 5. – P. 835–842.
124. Elgawish A., Glomb M., Friedlander M. et al. // *Ibid.* – 1996. – **271**, N 22. – P. 12964–12971.
125. Hudson B. I., Bucciarelli L. G., Wendt T. et al. // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2003. – **419**, N 1. – P. 80–88.
126. Atanasova A., Handzhiyski Y., Sredovska-Bozhinov A. et al. // *Biotech. Biotechnologic. Equip.* – 2012. – **26**, N 1. – P. 140–145.
127. Vitek M. P., Bhattacharya K., Glendening J. M. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1994. – **91**, N 11. – P. 4766–4770.
128. Forman H. J. // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2010. – **1203**, N 1. – P. 35–44.
129. Forman H. J., Fukuto J. M., Miller T. et al. // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2008. – **477**, N 2. – P. 183–195.
130. Leandro M. J., Fonseca C., Gonzalves P. // *FEMS Yeast Res.* – 2009. – **9**, N 4. – P. 511–525.
131. Sohal R. S., Orr W. C. // *Free Radic. Biol. Med.* – 2012. – **52**, N 3. – P. 539–555.
132. Akhand A. A., Hossain K., Kato M. et al. // *Ibid.* – 2001. – **31**, N 10. – P. 1228–1235.
133. Yamawaki H., Saito K., Okada M. et al. // *Am. J. Physiol.* – 2008. – **295**, N 6. – P. C1510–C1517.
134. Stern D. M., Yan S. D., Yan S. F. et al. // *Ageing Res. Rev.* – 2002. – **1**, N 1. – P. 1–15.
135. Дубинина Е. Е., Дадали В. А. // *Біохімія.* – 2010. – **75**, № 9. – P. 1189–1212.
136. Farmer E. E., Davoine C. // *Curr. Opin. Plant Biol.* – 2007. – **10**, N 4. – P. 380–386.
137. Calabrese V., Cornelius C., Dinkova-Kostova A. T. et al. // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2012. – **1822**, N 5. – P. 753–783.
138. Kobayashi M., Yamamoto M. // *Adv. Enzyme Regul.* – 2006. – **46**, N 1. – P. 113–140.
139. Wu R. P., Hayashi T., Cottam H. B. et al. // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2010. – **107**, N 16. – P. 7479–7484.
140. Alméras E., Stolz S., Vollenweider S. et al. // *Plant J.* – 2003. – **34**, N 2. – P. 205–216.
141. Луцк В. И. // *Біохімія.* – 2010. – **75**, № 3. – С. 281–296.
142. Schmidt A. M., Vianna M., Gerlach M. et al. // *J. Biol. Chem.* – 1992. – **267**, N 21. – P. 14987–14997.
143. Younessi P., Younessi A. // *IJMS.* – 2011. – **36**, N 3. – P. 154–166.
144. Neumann H., Schweigreiter R., Yamashita T. et al. // *J. Neurosci.* – 2002. – **22**, N 3. – P. 854–862.

145. Ward R. A., McLeish K. R. // *Nephrol. Dial. Transp.* – 2004. – **19**, N 7. – P. 1702–1707.
146. Kikuchi S., Shinpo K., Takeuchi M. et al. // *Brain Res. Rev.* – 2003. – **41**, N 2–3. – P. 306–323.
147. Ansari N. A., Rasheed Z. // *Biochemistry (Moscow)*. – 2009. – **3**, N 4. – P. 335–342.
148. Uchida K., Khor O. T., Oya T. et al. // *FEBS Lett.* – 1997. – **410**, N 2–3. – P. 313–318.
149. Hipkiss A. R. // *Exper. Gerontol.* – 2006. – **41**, N 5. – P. 464–473.
150. Monnier V. M., Cerami A. // *Science.* – 1981. – **211**, N 4481. – P. 491–493.
151. Atanasiu V., Stoian I., Manolescu B. et al. // *Rev. Roum. Chim.* – 2006. – **51**, N 9. – P. 861–869.
152. Xue M., Rabbani N., Thornalley P. J. // *Semin. Cell Dev. Biol.* – 2011. – **22**, N 3. – P. 293–301.
153. Takahashi M., Pischetsrieder M., Monnier V. M. // *Biochem. J.* – 1997. – **272**, N 19. – P. 12505–12507.
154. Birkenmeier G., Stegemann C., Hoffmann R. et al. // *PLoS One.* – 2010. – **5**, N 4. – e10399.
155. Lushchak V. I. // *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.* – 2011. – **153**, N 2. – P. 175–190.
156. Petranovic D., Tyo K., Vemuri G. N., Nielsen J. // *FEMS Yeast Res.* – 2010. – **10**, N 8. – P. 1046–1059.
157. Fontana L., Partridge L., Longo V. D. // *Science.* – 2010. – **328**, N 5976. – P. 321.
158. Rubin G. M., Yandell M. D., Wortman J. R. et al. // *Ibid.* – 2000. – **287**, N 5461. – P. 2204–2215.
159. Gomes R. A., Vicente Miranda H., Sousa Silva M. et al. // *FEMS Yeast Res.* – 2008. – **8**, N 1. – P. 174–181.
160. Tyedmers J. // *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes.* – 2012. – **120**, N 4. – P. 179–181.
161. Reifemberger E., Boles E., Ciriacy M. // *FEBS J.* – 1997. – **245**, N 2. – P. 324–333.
162. Grzelak A., Macierzyńska E., Bartosz G. // *Exper. Gerontol.* – 2006. – **41**, N 9. – P. 813–818.
163. Penninckx M. J., Jaspers C. J., Legrain M. J. // *Biochem. J.* – 1983. – **258**, N 10. – P. 6030–6036.
164. Pocsí I., Prade R. A., Penninckx M. J. // *Adv. Microb. Physiol.* – 2004. – **49**. – P. 1–76.
165. Hohmann S. // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* – 2002. – **66**, N 2. – P. 300–372.
166. Bito A., Haider M., Briza P. et al. // *Protein Expr. Purif.* – 1999. – **17**, N 3. – P. 456–464.

Отримано 21.02.2012