СЫКТЫВКАРСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ ПИТИРИМА СОРОКИНА
ОПОРНЫЙ ВУЗ РЕГИОНА

Е. Н. Прошкина, И. Н. Юранева, А. А. Москалев

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ: СТРЕСС-РЕАКЦИИ КЛЕТКИ

УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ ДЛЯ ВУЗОВ

Книга доступна в электронной библиотечной системе
biblio-online.ru

Москва ▪ Юрайт ▪ 2018

УДК 576(075.8)
ББК 28.072я73
П84

***Авторы*:**

Прошкина Екатерина Николаевна — кандидат биологических наук, доцент кафедры экологии Института естественных наук Сыктывкарского государственного университета имени Питирима Сорокина, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной радиобиологии и геронтологии Института биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН;

Юранева Ирина Николаевна — кандидат биологических наук, директор Института естественных наук Сыктывкарского государственного университета имени Питирима Сорокина;

Москалев Алексей Александрович — доктор биологических наук, член-корреспондент, профессор РАН, доцент, заведующий кафедрой экологии Института естественных наук Сыктывкарского государственного университета имени Питирима Сорокина, заведующий лабораторией молекулярной радиобиологии и геронтологии Института биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН.

***Рецензенты*:**

Осипов А. Н. — доктор биологических наук, профессор РАН, заведующий отделом экспериментальной радиобиологии и радиационной медицины Государственного научного центра Российской Федерации — Федерального медицинского биофизического центра имени А. И. Бурназяна;

Абилев С. К. — доктор биологических наук, профессор, зам. директора по научной работе Института общей генетики имени Н. И. Вавилова РАН.

Прошкина, Е. Н.

П84 Молекулярная биология: стресс-реакции клетки : учеб. пособие для вузов / Е. Н. Прошкина, И. Н. Юранева, А. А. Москалев. — М. : Издательство Юрайт, 2018. — 101 с. — (Серия : Университеты России).

ISBN 978-5-534-06471-1

Серия «Университеты России» позволит высшим учебным заведениям нашей страны использовать в образовательном процессе издания (в том числе учебники и учебные пособия) по различным дисциплинам, подготовленные преподавателями лучших университетов России и впервые опубликованные в издательствах университетов. Все представленные в этой серии работы прошли экспертную оценку учебно-методического отдела издательства и публикуются в оригинальной редакции.

Пособие призвано сформировать у студентов комплексное представление о сути и механизмах стресс-реакций биосистем на уровне клетки, а также о возможных последствиях нарушения реакции клеток на стресс. В издании приведены протоколы экспериментальных процедур для анализа реакции клеток на стресс, материалы для выполнения лабораторных работ, контрольные вопросы и тесты, а также задания для промежуточной аттестации. К пособию прилагается презентация, расположенная в ЭБС «Юрайт» (biblio-online.ru).

Предназначено для студентов направления «Экология и природопользование» и всех интересующихся представленной проблематикой.

УДК 576(075.8)
ББК 28.072я73

Delphi Law Company

Все права защищены. Никакая часть данной книги не может быть воспроизведена в какой бы то ни было форме без письменного разрешения владельцев авторских прав. Правовую поддержку издательства обеспечивает юридическая компания «Дельфи».

© Прошкина Е. Н., Москалев А. А., Юранева И. Н., 2017
© ФГБОУ ВО «СГУ им. Питирима Сорокина», 2017
© ООО «Издательство Юрайт», 2018

ISBN 978-5-534-06471-1

Содержание

Введение ... 4

Содержание дисциплины ... 5

ЛЕКЦИИ ... 8

Тема 1. Понятие стресса. Компоненты и функции стресс-сигналинга клетки ... 8

Тема 2. Метаболический стресс. Образование и предотвращение повреждений макромолекул клетки ... 11

Тема 3. Механизмы ответа на повреждение ДНК ... 17

Тема 4. Механизмы ответа на повреждение белков и липидов ... 27

Тема 5. Эпигенетические механизмы гомеостаза ... 36

Лабораторные работы ... 57

Лабораторная работа № 1. Анализ уровня однонитевых и двунитевых повреждений ДНК с помощью метода «ДНК-комет» ... 57

Лабораторная работа № 2. Изучение скорости репарации ДНК с помощью метода ПЦР «в реальном времени» ... 59

Лабораторная работа № 3. Изучение активности генов стресс-ответа с помощью метода ОТ-ПЦР «в реальном времени» ... 63

ПРАКТИЧЕСКИЕ ЗАНЯТИЯ ... 69

Самостоятельная работа студентов ... 73

Задания по теме 1. Понятие стресса. Компоненты и функции стресс-сигналинга клетки ... 73

Задания по теме 2. Метаболический стресс. Образование и предотвращение повреждений макромолекул клетки ... 74

Задания по теме 3. Механизмы ответа на повреждение ДНК ... 75

Задания по теме 4. Механизмы ответа на повреждение белков и липидов ... 76

Задания по теме 5. Эпигенетические механизмы гомеостаза ... 77

Задания для самостоятельной работы ... 79

Контрольные вопросы ... 81

Контрольный тест ... 83

Промежуточная аттестация ... 91

Библиографический список ... 97

ВВЕДЕНИЕ

Целью учебного курса «Стресс-реакции клетки» и данного учебно-методического пособия является формирование у студентов комплексного представления о сути и механизмах стресс-реакций биосистем на уровне клетки, а также о возможных последствиях нарушения реакции клеток на стресс.

Задачи:

- дать представление о клетке как системе, способной к скоординированной регуляции происходящих в ней процессов и самоподдержанию;
- углубить знания о механизмах влияния стрессоров и реакции на их действие на уровне клетки;
- дать понимание о влиянии систем сресс-реакции клетки на состояние целого организма;
- познакомить студентов с основными методами анализа реакции клеток на стресс.

В результате использования пособия студент **узнает** понятие клеточного стресса и стресс-реакции клетки, последствия действия стрессовых факторов на клетки, а также основные механизмы и стратегии ответа клетки на стресс и вызывающие его факторы; приобретет **умение** использовать теоретические и практические знания о стресс-реакциях клетки при оценке влияния факторов среды на живые организмы в практической деятельности, а также **овладеет** методами анализа уровня повреждений ДНК и активности генов стресс-ответа.

Дисциплина «Стресс-реакции клетки» относится к блоку Б1.В. Общенаучный цикл. В ходе изучения дисциплины «Стресс-реакции клетки» магистранты углубляют знания, полученные ими в ходе освоения таких базовых дисциплин, как «Биология и экология клетки», «Общая и популяционная генетика», «Экологическая генетика», «Химия», «Физика» (применительно к молекулярно-клеточному уровню организации живых систем). Представленный курс связан с курсом «Эпигенетические механизмы гомеостаза», который студенты изучают в следующем семестре, и поможет в понимании материала, излагаемого в нем.

Информация, представленная в учебно-методическом пособии, позволит более полно понимать механизмы реакции организмов в ответ на действие факторов среды, поэтому оно необходимо для формирования специалиста в области теоретической и прикладной экологии.

СОДЕРЖАНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ

Тема 1. Понятие стресса. Компоненты и функции стресс-сигналинга клетки.

- Понятия: стресс, стресс-реакция, стрессовый фактор, клеточный гомеостаз.
- Стадии стресс-реакции клетки.
- Стресс-сигналинг: белки сенсоры, трансдукторы, транскрипционные факторы, эффекторы.
- Функции механизмов клеточного стресс-ответа.
- Методы изучения клеточного стресс-сигналинга *in silico*. Построение генных сетей.

Тема 2. Метаболический стресс. Образование и предотвращение повреждений макромолекул клетки.

- Изменения в метаболизме и функционировании клеточных компартментов при стрессе. Повреждение макромолекул (ДНК, белков, мембран).
- Потенциальные последствия дерегуляции механизмов ответа на стресс.
- Свободные радикалы и их действие на живые клетки.
- Механизмы детоксикации свободных радикалов.
- Ксенобиотики. Механизмы детоксикации ксенобиотиков и других токсикантов.
- Образование и предотвращение накопления конечных продуктов гликозилирования белков.
- Методы изучения повреждений клеточных макромолекул и стресс-реакций клетки.

Лабораторная работа № 1. Анализ уровня однонитевых и двунитевых повреждений ДНК методом «ДНК-комет».

На занятии студенты оценивают уровень однонитевых разрывов ДНК, щелочнолабильных сайтов и двунитевых разрывов ДНК в нейробластах дрозофил методом электрофореза единичных клеток в

геле («ДНК-комет») с последующей визуализацией «ДНК-комет» и демонстрацией методики анализа полученных препаратов.

Тема 3. Механизмы ответа на повреждение ДНК.

- Типы повреждений ДНК. Мутации.
- Механизмы распознавания повреждений ДНК.
- Стресс-индуцированная остановка клеточного цикла в проверочных точках. Обратимая и необратимая остановка клеточного цикла.
- Механизмы репарации ДНК: эксцизионная репарация оснований и нуклеотидов, репарация мисмэтчей, гомологичная рекомбинация, негомологичное воссоединение концов ДНК, однонитевой отжиг.
- Стресс-индуцированное клеточное старение.
- Типы клеточной гибели. Внутренние (митохондриальный и немитохондриальный) и внешний пути индукции апоптоза.

Лабораторная работа № 2. Изучение скорости репарации ДНК с помощью метода ПЦР «в реальном времени».

На занятии студенты индуцируют повреждение ДНК с помощью прооксиданта перекиси водорода в клетках имаго *Drosophila melanogaster* (или в культуре клеток фибробластов человека). Далее через 15, 60, 120, 180 минут проводят анализ количества повреждений ДНК с помощью метода ПЦР «в реальном времени» (по отдельным сенсорным генам). Полученные на занятии данные студенты экспортируют в электронные таблицы в формате *.xlsx, самостоятельно строят графики изменения количества повреждений ДНК и делают вывод о скорости репарации ДНК.

Тема 4. Механизмы ответа на повреждение белков и липидов.

- Повреждения белков.
- Белки теплового шока.
- Механизмы репарации и протеолиза белков.
- Автофагия.
- Стресс эндоплазматической сети и ответ на него.

- Повреждение липидов и последствия.
- Репарация липидных мембран и утилизация поврежденных липидов.

Лабораторная работа № 3. Изучение активности генов стресс-ответа с помощью метода ОТ-ПЦР «в реальном времени».

На занятии студенты индуцируют тепловой шок в клетках имаго *Drosophila melanogaster* (или в культуре фибробластов человека). Далее проводят выделение РНК с последующим этапом обратной транскрипции и измеряют активность гена белка теплового шока 70 (HSP70) методом ПЦР «реальном времени». Полученные на занятии данные студенты экспортируют в электронные таблицы в формате *.xlsx, самостоятельно строят графики изменения активности гена *HSP70* после теплового шока.

Тема 5. Эпигенетические механизмы гомеостаза.

- Генетика и эпигенетика. Опредение и предмет эпигенетики. Задачи эпигенетики. Объект и методы исследования. Связь с другими научными дисциплинами.
- Краткая история развития эпигенетики.
- Природа и суть эпигенетических процессов.
- Основные понятия: ген, геном, транскриптом, протеом, эпигеном.
- Состав и упаковка хроматина в ядре. Эухроматин и геторохроматин.
- Виды эпигенетических процессов.
- Метилирование ДНК.
- Модификации и варианты гистонов.
- Негистоновые белки хроматина. Polycomb и Trytorax.
- Некодирующие РНК и РНК-интерференция.
- Геномный импринтинг.
- Компенсация дозы и инактивация Х-хромосомы.

Лекции

Тема 1. Понятие стресса. Компоненты и функции стресс-сигналинга клетки

Все биологические системы, будь то популяция, организма или клетки, являются открытыми, то есть на них постоянно действуют какие-то факторы извне. Внешние факторы, действующие на биологическую систему и вызывающие стресс, называются стрессорами, а стресс рассматривается как состояние организма, формирующееся в ответ на их воздействие. Теория стресса была сформулирована Гансом Селье, им же был введен термин «стресс» (от англ. stress – напряжение), который автор определил как неспецифический ответ организма на действие повреждающего фактора. Реакции на стрессовые воздействия только при некоторых условиях являются патологическими, чаще они имеют адаптивное значение, и поэтому были названы г. Селье «общим адаптационным синдромом». Стресс-реакция в первую очередь направлена на поддержание гомеостаза биологической системы, т.е. на саморегуляцию, способность системы сохранять постоянство своего внутреннего состояния посредством скоординированных реакций, направленных на поддержание динамического равновесия.

В развитии стресс-реакции прослеживают определенную фазность (стадийность). Обычно выделяют три фазы реакции на воздействие неблагоприятных факторов: тревоги, резистентности и истощения. В первую фазу наблюдаются значительные отклонения в физиолого-биохимических процессах, проявляются как симптомы повреждения, так и защитная реакция. Значение защитных реакций состоит в том, что они направлены на устранение повреждений. Во второй фазе либо биологическая система адаптируется к новым условиям существования, либо повреждения усиливаются. При медленном развитии неблагоприятных условий биологическая система легче приспосабливается к ним. Продолжительное состояние стресса вызывает вначале относительную стабилизацию функциональной активности систем клетки и

организма – стадию резистентности, однако если не происходит адаптация организма к раздражителю, наступает третья стадия – стадия истощения функций. В эту фазу усиливаются гидролитические процессы, подавляются энергообразующие и синтетические реакции, нарушается гомеостаз. Гибель может наступить в стадии резистентности, если повреждающее воздействие было настолько сильным, что адаптация к нему оказалась невозможной, но обычно это происходит именно на стадии истощения.

Несмотря на то что г. Селье изначально определил стресс как неспецифическое состояние, происходящее в процессе стресс-реакции, изменения могут носить как неспецифический, так и специфический характер. Неспецифическими являются однотипные реакции организма на действие разнородных стрессоров или разных организмов на один и тот же стресс-фактор. К специфическим относят ответные реакции, качественно отличающиеся в зависимости от фактора, генотипа или стадии развития. Неспецифика включает, например, синтез особых белков. При воздействии каждого вида стрессора происходит синтез как общих, так и специфичных белков. Кроме того, при изучении процессов устойчивости отмечаются случаи одновременного ее повышения к нескольким факторам после действия какого-либо одного стрессора (по П.А. Генкелю: «сопряженная устойчивость», также ее называют перекрестной адаптацией). Так, установлено, что предварительный тепловой шок повышает устойчивость различных организмов к водному дефициту, засолению, тяжелым металлам, ионизирующему излучению, окислительному стрессу.

Реакция организма на изменившиеся условия является комплексной, включающей изменения биохимических и физиологических процессов на различных уровнях организации. Наиболее фундаментальными и общими для всех живых организмов являются молекулярно-генетические механизмы ответа на стресс. Основными макромолекулами, реализующими стресс-реакцию клетки, являются белки. Защитная роль стрессовых белков подтверждается фактами гибели клеток *in vivo* и *in vitro* при введении ингибиторов синтеза белка в период действия стрессора. С другой стороны, изменения в структуре генов, кодирующих белки стресс-ответа, приводят к существенному снижению устойчивости клеток. В результате изменения действия фактора (или

факторов) происходит переключение жизни клетки на стрессовую программу. Это осуществляется одновременно на многих уровнях регуляции, но начинается все, как правило, с клеточного уровня. Тормозится экспрессия генов, активность которых характерна для жизни клетки в нормальных условиях, и активируются гены стрессового ответа.

Стресс-сигналинг строится на белках-рецепторах или сенсорах, трансдукторах, транскрипционных факторах, эффекторах. Стресс-факторы активируют рецепторы в плазматической мембране или вызывают повреждения клеточных структур и макромолекул, которые распознаются белками-сенсорами в цитоплазме. Таким образом запускается сигнальная цепь, которая через различные медиаторы (трансдукторы) – протеинкиназы, фосфатазы, деацетилазы и другие белки – индуцирует один или несколько транскрипционных факторов. Активированный транскрипционный фактор перемещается из цитоплазмы в ядро, где связывается со специфическим промотором стресс-индуцируемого гена и запускает синтез его мРНК. Далее по матрице мРНК на рибосомах синтезируется аминокислотная последовательность белка, выполняющего определенную функцию в ответе клетки на стресс.

Уже через несколько минут после начала стресса в клетках появляются мРНК, кодирующие стрессовые белки. Происходят изменения и в белоксинтезирующем аппарате. Распадаются многие полисомы, синтезирующие нормальные белки, и формируются полисомы, синтезирующие стрессовые белки. Наблюдается ослабление синтеза обычных белков в клетке и переключение аппарата белкового синтеза на синтез стрессовых белков. Их синтез постепенно нарастает, достигая максимума, а затем снижается. После окончания воздействия синтез стрессовых белков прекращается и возобновляется синтез белков, характерных для клетки в нормальных условиях. При нормальной температуре мРНК стрессовых белков быстро разрушаются, но сами белки могут сохраняться существенно дольше, обеспечивая устойчивость клеток к последующему действию факторов.

Стрессовые факторы могут приводить к разнообразным негативным последствиям, включая нарушение метаболизма клеток и повреждение разнообразных клеточных структур и макромолекул. Стресс-

ответ на клеточном уровне клетки включает в себя механизмы, направленные на реализацию следующих функций:

1) предотвращение (детоксификация свободных радикалов и ксенобиотиков);

2) репарация (репарация ДНК и восстановление нативной структуры белков);

3) удаление (протеолиз, автофагия, апоптоз);

4) замещение (синтез макромолекул *de novo*, пролиферация клеток, дифференцировка стволовых клеток).

Тема 2. Метаболический стресс. Образование и предотвращение повреждений макромолекул клетки

Метаболический стресс

Важнейшей неспецифической реакцией на неблагоприятные воздействия является изменение свойств мембран, что связано с перестройками в их структуре. Это в значительной мере касается липидов. Наблюдаются сдвиги в соотношении различных групп жирных кислот, изменяется степень их ненасыщенности, возрастает уровень перекисного окисления липидов, снижается их подвижность. Это влияет на функции мембранных белков. Структурные изменения в мембранах приводят к освобождению из связанного состояния ионов Ca^{2+}. Известна роль кальция в поддержании структуры хроматина, в регуляции активности ферментов в митохондриях и хлоропластах. В результате стрессового воздействия поток кальция в цитоплазму, а далее его выход из цитоплазмы резко возрастает. Изменение концентрации кальция запускает специфические мембранные каналы и транспортные системы, а также вызывает структурные изменения в клетке.

Нарушение структуры мембран приводит к изменениям в метаболизме. Повышается проницаемость мембран, происходит деполяризация мембранного потенциала плазмалеммы, значение pH сдвигается в кислую сторону. Увеличивается вязкость цитоплазмы, наблюдается торможение деления и роста клеток.

Важной особенностью реакции клетки на стресс-факторы является изменение энергетического обмена. Митохондрии – это основные органеллы, снабжающие клетки таким энергетическим эквивалентом, как АТФ. В состоянии стресса цитохромный путь дыхания падает и возрастает альтернативный путь с его терминальной оксидазой АО, не сопровождаемой образованием АТФ. Возникает недостаток энергетических ресурсов. Между тем при стрессе необходимы дополнительные энергетические эквиваленты. Возрастают затраты АТФ на поддержание структуры и обмена веществ, что сопровождается временной активацией дыхания. В дальнейшем при усилении действия стрессора дыхание снижается и соотношение синтеза и расхода АТФ еще больше нарушается.

Образование и предотвращение повреждений макромолекул

Одними из основных агентов, повреждающих клеточные структуры и макромолекулы, являются *свободные радикалы*. Свободные радикалы в клетках возникают под воздействием разнообразных факторов внешней среды – ионизирующего (при ионизации происходит высвобождение и ионизация молекул, т.е. утрата им электрона) и ультрафиолетового излучений, химических окислителей, загрязнителей воздуха, воды, почв и продуктов питания, а также при повышенном потреблении кислорода, (например, при физической нагрузке). Даже в процессе дыхания при нормальной жизнедеятельности клеток образуются свободные радикалы кислорода (супероксидный радикал), азота (нитрооксидный радикал, радикал оксида азота) и водорода (гидроксильный радикал). Наиболее значительный вклад в этот процесс вносят митохондрии при осуществлении окислительного фосфорилирования – процесса, который использует в контролируемое окисление НАДН или ФАДН для выработки потенциальной энергии во внутренней мембране митохондрий. Эта потенциальная энергия затем используется для фософрилирования АДФ. В комплексах I и III электронтранспортной цепи цитохромов электроны, получаемые от НАДН или ФАДН, могут напрямую реагировать с кислородом или другими акцепторами электрона и генерировать свободные радикалы. Но свободные радикалы могут также образовываться в результате многих ферментативных и неферментативных реакций другими си-

стемами клетки – цитохромом P450, белками плазматической мембраны НАДФН-оксидазами, в результате липидного метаболизма в пероксисомах и активности различных цитозольных ферментов, например циклооксигеназы.

Свободные радикалы синтезируются в самих клетках, так как выполняют некоторые важные функции в клеточных ответах на патогенные и токсические агенты. Например, они выделяются фагоцитирующими клетками (нейтрофилами, макрофагами, моноцитами, эозинофилами) при инфекционных и иных воспалительных процессах и оказывают антимикробное действие. Кроме того, они участвуют в функционировании систем внутриклеточного сигналинга – трансдукции сигнала от рецепторов некоторых цитокинов, факторов роста, гормонов и медиаторов в качестве вторичных посредников.

С другой стороны, свободные радикалы вследствие их высокой реакционной способности при высоких концентрациях потенциально токсичны, мутагенны и канцерогенны, служат причиной различных повреждений макромолекул и нарушений метаболических путей. Они могут вызвать одиночные и двойные разрывы ДНК, агрегацию и денатурацию белков, сшивки белковых молекул и нитей ДНК, перекисное окисление липидов, укорочение теломер, блокаду реакционных центров ферментов, подавление гликолиза, повышение концентрации кальция, общее энергетическое истощение организма, апоптоз или некроз.

Тем не менее подавляющее большинство свободных радикалов нейтрализуются еще до того, как они успевают повредить те или иные компоненты клетки. К основным эндогенным факторам антиоксидантной защиты организма относится ряд ферментов (например, супероксиддисмутаза, каталаза, глутатион пероксидаза) и витаминов (например, β-каротин, α-токоферол, аскорбиновая кислота). Антиоксидантную активность могут также проявлять другие вещества, например мелатонин, карнозин, карцинин, хелатные агенты, синтетические антиоксиданты.

Основным ферментом, нейтрализующим свободный радикал супероксид $O_2^{\cdot-}$, вызывающий повреждение многих клеточных структур, является супероксиддисмутаза (SOD). Существуют три фермента супероксиддисумутазы: SOD1, содержащий медь и цинк фермент цито-

золя, SOD2, марганец-содержащий фермент в матриксе митохондрий, а также SOD3, содержащий медь и цинк-внеклеточный фермент. Ферменты SOD восстанавливают супероксид до перекиси водорода H_2O_2, которая затем деактивируется каталазой до воды и кислорода либо глутатион пероксидазами до окисленного глутатиона и воды.

Важным детоксификатором свободных радикалов в клетке является глутатионовая система, которая состоит из глутатиона в восстановленной и окисленной формах и трёх ферментов, обеспечивающих его метаболизм. Глутатион является биологическим восстановителем и выполняет функцию субстрата ферментативного восстановления пероксидов, конъюгата ксенобиотиков для облегчения их выведения из клетки, участвует в транспорте аминокислот, тиолировании/детиолировании белков, поддержании окислительно-восстановительного статуса клетки. Саму реакцию детоксификации осуществляет глутатион пероксидаза, которая восстанавливает пероксиды. Данный фермент забирает электрон у восстановленной формы глутатиона, переводя его в окисленную форму. Восстановление глутатиона осуществляет глутатион редуктаза, либо глутатион S-трансфераза катализирует конъюгацию окисленного глутатиона, индуцируя его выведение из клетки. Аналогичным образом устроена другая система детоксификации – тиоредоксиновая, которая в качестве окислительно-восстановительной пары использует окисленную и восстановленную формы белка тиоредоксина.

Повреждающим действием обладают не только сами свободные радикалы, но и продукты их взаимодействия с макромолекулами клетки. Например, перекисное окисление липидов приводит к формированию высокоактивного продукта – малонового диальдегида. Малоновый диальдегид показывает большую активность по отношению к белкам и ДНК. Он может приводить к образованию аддуктов в аминокислотных последовательностях и перекрестных сшивок с другими белками и продуктами их окисления и гликозилирования (например, основаниями Шиффа), а также с фосфолипидами. Это приводит к нарушению выполнения белками своих функций (например, перекрестные сшивки с лизином ухудшают функционирование РНКаз) и изменению структуры и характеристик тканей организма (например, снижению эластичности коллагена). Малоновый диальдегид также

взаимодействует с ДНК и оказывает мутагенное и канцерогенное воздействие. Он может вызывать аддукты оснований нуклеиновых кислот и приводить к образованию сшивок ДНК-ДНК и ДНК-белок. Элиминирование малонового диальдегида осуществляется с помощью альдегид дегидрогеназы и тиокиназы путем преобразования в нетоксичные продукты еще до того, как он успевает начать взаимодействовать с макромолекулами клетки. Однако если он не был утилизирован, то он устойчиво связывается с белками и нуклеиновыми кислотами. Стоит отметить, что при модификации малоновым диальдегидом белки снижают чувствительность к протеазам и достаточно долго сохраняются в клетках и тканях организма, приводя к ухудшению их функций и способствуя развитию воспалительного ответа.

Гликозилирование белков представляет собой процесс, при котором сахара (остатки глюкозы, фруктозы или глюкоза-6-фосфата) связываются со свободными лизин или аргинин аминогруппами белков, образуя устойчивые токсичные конечные продукты глубокого гликозилирования. Существуют три механизма образования конечных продуктов гликозилирования: гликирование, полиоловый путь и глиоксилирование. Гликирование представляет собой неферментативный процесс образования конечных продуктов гликозилирования, который происходит в условиях насыщенной глюкозой среды в результате реакции Мейяра (Maillard) через образование промежуточных продуктов – оснований Шиффа и продуктов Амадори. Полиоловый путь имеет ферментативную природу и связан с трансформированием глюкозы алдолаза редуктазой или сорбитол дегидрогеназой в промежуточный продукт, который после связывания с белком образует конечные продукты гликозилирования. Глиоксилирование происходит в условиях оксидативного стресса, при котором окисление глюкозы приводит к формированию глиоксаля и метилглоксаля. Они быстро реагируют с различными белками с образованием конечных продуктов гликозилирования. Конечные продукты гликозилирования труднорастворимы, устойчивы к протеолитическому расщеплению, химически активны и могут ковалентно связывать белки и некоторые другие вещества, имеющие свободные аминогруппы (ДНК, некоторые липиды), химически инактивировать окись азота. Они могут модифицировать клеточные структуры путем сшивок белков, таких как кол-