

УДК 576.32/36:535.379

Хемилюминесценция в исследовании свободнорадикальных реакций. Часть 1

Л. А. Ромодин*

Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина, Министерство сельского хозяйства РФ, Москва, 109472 Россия

*E-mail: rla2904@mail.ru

Поступила в редакцию 18.03.2020

Принята к печати 11.06.2020

DOI: 10.32607/actanaturae.10912

РЕФЕРАТ В представленном обзоре рассмотрено применение метода регистрации хемилюминесценции для оценки течения свободнорадикальных процессов в модельных биологических системах. Приведена классификация экспериментальных модельных биологических систем. В общих чертах рассмотрены метаболические пути свободных радикалов в клетке. Представлены аргументы в пользу необходимости использования метода регистрации хемилюминесценции при исследовании свободнорадикальных процессов наряду с такими методами регистрации электромагнитного излучения, как электронный парамагнитный резонанс, спектрофотометрия и регистрация инфракрасного излучения, а также с химическими методами оценки конечных продуктов свободнорадикальных реакций. Наиболее подробно рассмотрена хемилюминесценция, сопровождающая свободнорадикальные реакции с участием липидов – одну из ключевых причин гибели клеток по пути апоптоза (в случае запуска комплексом цитохрома с с кардиолипином) или ферроптоза (индуцируемого свободными ионами двухвалентного железа), а также разобрано понятие квантового выхода хемилюминесценции.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА свободнорадикальные реакции, апоптоз, ферроптоз, хемилюминесценция, перекисное окисление липидов, активные формы кислорода.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ МДА – малоновый диальдегид; ЭВС – электронные возбужденные состояния; ЭПР – электронный парамагнитный резонанс.

ВВЕДЕНИЕ

Биохемилюминесценция – явление генерации фотонов в биологических системах. Нередко можно встретить также термин «биолюминесценция», который, строго говоря, лишен смысла, так как описывает свечение живых организмов, обусловленное химическими реакциями. Это свечение вызвано протеканием в этих системах реакций с участием свободных радикалов. Закономерности протекания этих реакций и влияние на этот процесс различных факторов, например антиоксидантов, изучают с использованием метода регистрации хемилюминесценции. Однако перед непосредственным описанием хемилюминесценции и механизмов ее возникновения в биологических системах необходимо написать несколько фраз, относящихся к систематизации модельных биологических систем.

МОДЕЛЬНЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ В ИЗУЧЕНИИ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ РЕАКЦИЙ

Экспериментальная модельная система – материальная система, воздействие на которую физиче-

ским, химическим, биологическим или иным фактором способно дать информацию о последствиях влияния этого фактора на систему-оригинал. Можно привести следующую классификацию экспериментальных модельных систем, имеющих отношение к биологическим исследованиям.

А. Собственно биологические модельные системы:

А1. Лабораторные животные. Эта модель наиболее полно отражает свойства человеческого организма. Однако необходимо учитывать таксономические особенности используемых животных (например, способность синтезировать витамин С), что позволит понять, насколько результат, полученный на данной модели, можно перенести на организм человека. В качестве примера можно привести изучение свободнорадикальных процессов, выполненное коллективом под руководством М.В. Листова [1, 2] на мышах, и разработку модели цирроза печени у крыс, индуцированного ацетаминофеном (парацетамолом) [3];

А2. Эмбрионы животных. Основное отличие данной модели от предыдущей заключается в возможности сокращения времени эксперимента, а также

в использовании более полного набора воздействий в силу нераспространения на эмбрионы ранних стадий развития нормативных актов о правах лабораторных животных. В качестве примера можно привести работу [4], в которой на эмбрионах рыбки *Brachydanio rerio* (полосатый данио) изучали последствия авитаминоза и гипервитаминоза витамина Е у их родителей;

А3. Нейромышечный препарат. На этой модели [5] показана свободнорадикальная природа возбуждения и торможения в нервной ткани;

А4. Культуры клеток. Эту модель используют для определения содержания формальдегида методом регистрации хемилюминесценции, усиленной производным кумарина, в условиях искусственно индуцированного стресса [6].

А5. Культура митохондрий. Эта модель позволяет прицельно исследовать процессы, происходящие в митохондриях. В качестве примера можно привести работы под руководством Ю.А. Владимирова по регистрации хемилюминесценции в суспензии митохондрий, результаты которых позволили предположить, что перекисное окисление липидов митохондриальных мембран инициируется при дефиците ферментов, катализирующих β -окисление жирных кислот [7–9]. К этой же группе можно отнести и культуру изолированных пластид растений, например хлоропластов [10];

А6. Препарат тканей. При исследовании тканей, полученных непосредственно от животных, экспериментальной моделью служат, строго говоря, сами лабораторные животные. На тканевом препарате впервые обнаружили биохемилюминесценцию [11]. Метод регистрации хемилюминесценции крови и ее фракций используется во многих работах [12–16];

А7. Модель на основе грибов. Наиболее часто в качестве экспериментальной модели используют пекарские дрожжи (*Saccharomyces cerevisiae*). Так, эту модель использовали для изучения окислительного стресса методом регистрации хемилюминесценции [17];

А8. Растительные модели. К этой группе моделей можно отнести как целые растения, проростки или отдельные органы, так и культуры растительных клеток и тканей. На семядолях бобов [18] показано увеличение концентрации супероксидного анион-радикала при повышении активности липоксигеназ. В качестве примера можно привести применение метода регистрации хемилюминесценции [19] при изучении связывания пептидного лиганда с клеточным рецептором.

Можно выделить также большую группу моделей, названную молекулярными моделями, в которую вошли две группы систем.

В. Условно биологические экспериментальные модели:

В1. Модели на основе биологических молекул, выделенных исключительно из живых организмов, например, на выделенных из животных цитохроме с и кардиолипине [20], в качестве молекулярной модели использовали также ДНК *Escherichia coli* [1];

В2. Молекулярные модели на основе биологических молекул, выделенных из живых организмов, и идентичных им искусственно синтезированных молекул. В качестве примера можно привести изучение участия производных кумарина в реакции, катализируемой комплексом цитохрома с с кардиолипином, с использованием цитохрома с, выделенного из сердца лошади, и искусственно синтезированного тетраолеилкардиолипина [21];

С. Модели на основе синтетических полимеров и низкомолекулярных органических веществ. Строго говоря, эти модели нельзя считать биологическими, однако некоторые данные, полученные с их использованием, можно переносить на живые системы. При этом именно эти модели зачастую оказываются наиболее подходящими при изучении базовых закономерностей свободнорадикальных реакций:

С1. Молекулярная модель, в которой используются биомолекулы и небологический аналог биомолекулы. Так, додецилсульфат-анион используют в качестве аналога кардиолипина для изучения изменения свойств цитохрома с при связывании с фосфолипидами [22]. Эта модель позволяет изучать комплекс цитохрома с с кардиолипином, запускающий перекисидацию липидов мембран митохондрий, что приводит к инициации апоптоза по митохондриальному пути [23];

С2. Молекулярная модель с использованием синтетического полимера. С помощью данной модели изучали генерацию хемилюминесценции при разрушении полимеров [24] и кинетику алкил-радикального распада полиэтилена [25];

С3. Молекулярная модель на основе только низкомолекулярных органических веществ. С помощью этой модели получены данные о природе хемилюминесценции, вызванной реакциями углеводородных радикалов, образующихся при действии продуктов термического распада α_1, α_2 -азобисизобутиронитрила [26]. Углеводороды можно считать весьма удобной моделью для изучения свободнорадикальных реакций с участием липидов, так как «хвосты» липидных молекул являются по своей сути углеводородами. Опубликованы результаты подобных работ [26, 27], послужившие основой для исследования механизмов перекисного окисления липидов [28–31].

ЯВЛЕНИЕ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ И МЕХАНИЗМ ЕГО ВОЗНИКНОВЕНИЯ

Впервые испускание биообъектами светового излучения очень слабой интенсивности было замечено в конце первой трети прошлого века: В.В. Лепешкин обнаружил засветку лежащих на биопрепаратах фотопластинок, посчитав это излучение ультрафиолетовым, испускаемым при коагуляции протопласта при гибели клеток и назвав его некробиотическим излучением [32, 33]. А.Г. Гурвич, зарегистрировавший свечение суспензии делящихся дрожжей, выдвинул предположение о сигнальной роли люминесценции биопрепаратов в ультрафиолетовой области спектра. Это свечение он назвал «митогенетическим излучением» [34].

Впоследствии при помощи фотоэлектронных умножителей в третьей четверти XX века обнаружили световое излучение чрезвычайно низкой интенсивности в видимой области спектра (обозначенное в англоязычной литературе термином *ultraweak chemiluminescence* [35]), испускаемое биообъектами растительного [36] происхождения и животными тканями [11], была открыта хемилюминесценция интактных тканей, митохондрий [7–9] и хлоропластов [10]. В начале 1970-х годов Р. Эллан открыл хемилюминесценцию лейкоцитов из крови человека, осуществляющих фагоцитоз бактерий [37, 38]. Это открытие позволило использовать хемилюминесценцию в качестве клинического метода определения иммунореактивности.

Хемилюминесценция – это свечение, обусловленное переходом различных метаболитов свободнорадикальных реакций из электронно-возбужденного состояния (ЭВС) в основное [39, 40].

Свободнорадикальные процессы в биологических системах

Свободным радикалом называют частицу, имеющую свободную валентность, обусловленную наличием неспаренного электрона. Впервые радикалы описал М. Гомберг в начале XX века [41–43]. Свободные радикалы обладают высокой реакционной способностью. Это обуславливает их химическую нестабильность и короткое время жизни. При этом молекулярная структура радикала может влиять на его стабильность. К примеру, метильные заместители [44, 45] и иминоацетильный заместитель в *para*-положении [44] способствуют стабилизации радикала хинона.

В середине XX века были открыты радикальные формы компонентов дыхательной цепи – описан одноэлектронный перенос энергии [46–48]. До этого считалось, что окислительно-восстановительные реакции в биологических системах возможны лишь

отдачей и получением одновременно двух электронов [31].

Один из наиболее важных радикалов в процессах окислительного стресса – супероксид-анион радикал ($O_2^{\cdot-}$), образующийся при взаимодействии радикала семихинона (полувосстановленной формы убихинона) и молекулярного кислорода с внутренней стороны мембраны митохондрий, на комплексе III дыхательной цепи [49], а также на комплексе I [29] и в цитоплазме: NADPH-оксидазным комплексом на мембране эндоплазматического ретикулума или плазмалемме [50, 51]. Кроме того, супероксидный радикал образуется при окислении гемоглобина до гемина [2]. Образующийся супероксидный радикал является одним из компонентов нейрогуморальной регуляции [1, 2, 5, 52]. Коллективом под руководством М.В. Листова установлено, что супероксид-анион радикал, образующийся в крови, способствует генерации потенциалов на поверхности клеток, выполняя функцию триггера для эффекторов [5]. В частности, супероксидный радикал поддерживает автоматические сокращения миокарда, действуя на синусно-предсердный узел проводящей системы миокарда [52] и являясь мощным фактором деполаризации и гиперполяризации клеточной мембраны. Тем самым супероксидный радикал запускает механизмы возбуждения и торможения на поверхности проводящих волокон [5]. В предложенной Ю.А. Владимировым классификации супероксид-анион радикал наряду с монооксидом азота, образуемым NO-синтазами, назван первичным [29]. Этот термин указывает на то, что образование обоих радикалов катализируется ферментными системами [29, 53].

Первичные радикалы образуют молекулярные продукты: $O_2^{\cdot-}$ превращается под действием фермента супероксид-дисмутазы в пероксид водорода или реагирует с NO с образованием токсичного иона пероксинитрита $ONOO^-$ [54]. Супероксид обладает также способностью восстанавливать трехвалентное железо, содержащееся в ферритине или входящее в состав железосерных комплексов цепей переноса электронов, до двухвалентного, которое реагирует с пероксидом водорода или гипохлоритом с образованием чрезвычайно активного гидроксильного радикала ($\cdot OH$) и способно разветвлять цепи окисления липидов, реагируя с липогидропероксидами. Гидроксилрадикал может инициировать процесс перекисного окисления липидов с образованием липидных радикалов [29]. Образующиеся при этом активные формы кислорода и азота и гипохлорит в малых концентрациях выполняют функции вторичных мессенджеров, а при нарушении антиоксидантных систем клетки (большую роль играет глутатион

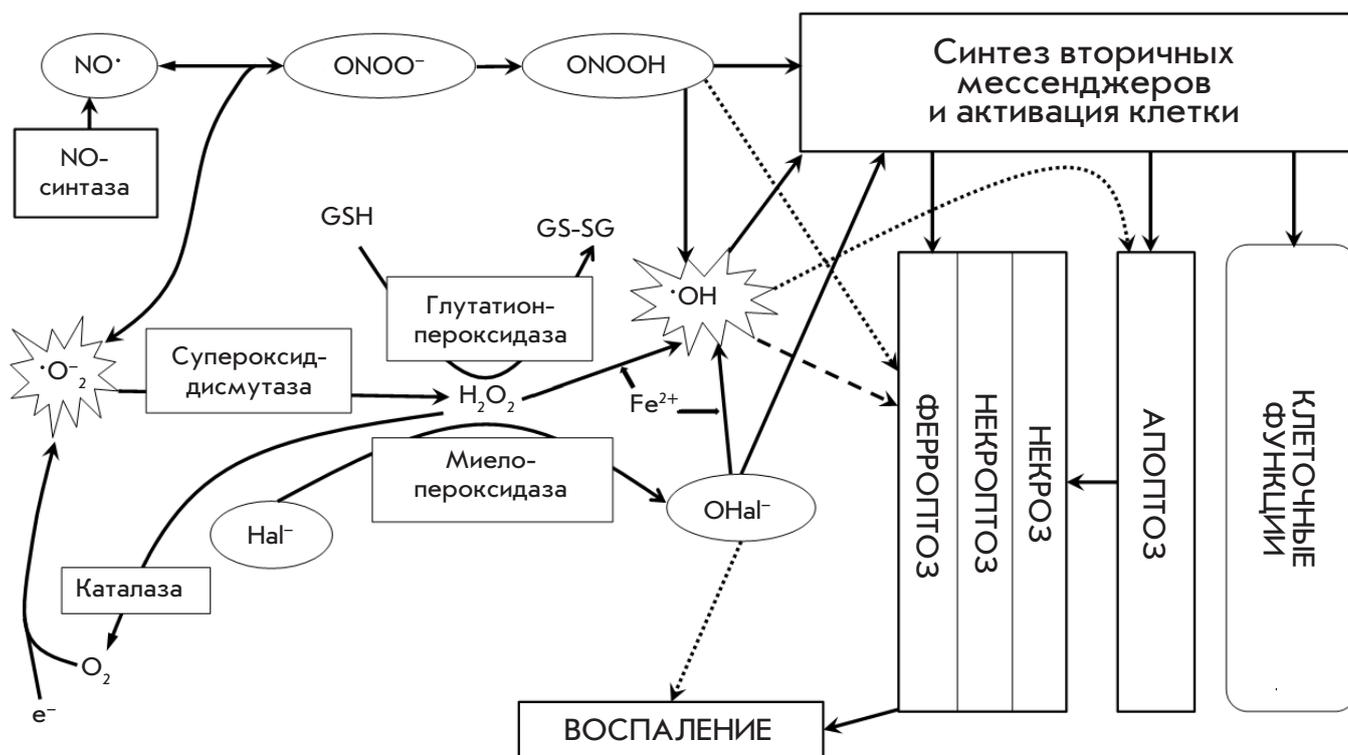


Рис. 1. Метаболические пути свободных радикалов [29, 54–57]

и глутатионпероксидаза [56]) приводят к состоянию окислительного стресса и, как следствие, к апоптозу [23, 58] или ферроптозу [59–61], запуская реакции пероксидации липидов. Необходимо заметить, что чаще всего пероксидацию липидов, ведущую к апоптозу, запускает цитохром с, образующий комплекс с кардиолипином; при связывании с которым происходит изменение конформации цитохрома с, и в результате данный белок приобретает способность катализировать липопероксидазную реакцию [62–64]. А ферроптоз обусловлен запуском ионами Fe^{2+} реакции Фентона с последующей пероксидацией липидов, вызванной гидроксильными радикалами [59–61]. В предложенной Ю.А. Владимировым классификации и гидроксильные, и липидные радикалы названы вторичными [53]. На схеме, представленной на рис. 1, приведены основные метаболические пути свободных радикалов в организме. Необходимо отметить отсутствие единой системы терминов, описывающих свободнорадикальные процессы в биологических системах и окислительный стресс.

Обнаружение свободных радикалов в биологических системах, собственная хемилюминесценция

Метод регистрации хемилюминесценции позволяет оценить скорость реакции образования свободных

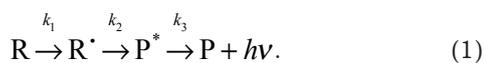
радикалов [28, 31]. Этот физический метод используется при изучении свободнорадикальных процессов наряду с химическими методами обнаружения молекулярных продуктов радикальных реакций. Наиболее часто маркером свободнорадикальных реакций и состояния окислительного стресса служит один из продуктов реакции перекисного окисления липидов – малоновый диальдегид (МДА), концентрацию которого определяют с использованием тиобарбитуровой кислоты (ТБА) [65, 66]. Для большей достоверности результатов предпочтительно также определять концентрации оснований Шиффа [67, 68], диеновых [69, 70] и триеновых [67] конъюгатов. Другие методы основаны на использовании перхвачников радикалов: антиоксидантных ферментов, таких, как каталаза (H_2O_2) [71] и супероксиддисмутаза ($O_2^{\cdot-}$) [69], фенольных антиоксидантов – для гидроксильных и липидных радикалов и других органических молекул [71]. Главный недостаток химических методов – невозможность определить природу и концентрацию самих свободных радикалов [29].

Метод электронного парамагнитного резонанса (ЭПР), разработанный в середине XX века [72], позволяет обнаружить и идентифицировать многие радикалы путем анализа сверхтонкой структуры ЭПР-сигналов [73, 74]. Однако применение мето-

да ЭПР затрудняется малой продолжительностью жизни и, как следствие, низкой концентрацией свободных радикалов [75]. К примеру, обнаружить радикалы, образующиеся в реакции катионов Fe^{2+} с гидропероксидами липидов, удалось только в проточной системе при большом расходе реактивов [76]. Расход реактивов можно снизить, используя спиновые ловушки [1, 77], которые, однако, могут влиять на биохимические реакции, протекающие в системе, а также разрушаться в ходе некоторых из них [29]. Свободнорадикальные процессы при гемзависимом экзофтальме изучали наряду с ЭПР методом спектроскопии в инфракрасном диапазоне (ИК-спектроскопии) [1]. Среди физических методов следует также указать метод спектрофотометрии. Так, этот метод использовали для определения концентрации продуктов окисления при изучении механизмов окисления гетероауксина (β -индолилуксусной кислоты) пероксидазой хрена и анионной пероксидазой табака [78]. Концентрацию маркеров перекисного окисления липидов в подавляющем большинстве случаев также определяют спектрофотометрически. При помощи спектрофотометрии с параллельной регистрацией хемилюминесценции исследовали производные кумарина, используемые в качестве люминесцирующей добавки при изучении пероксидазных свойств комплекса цитохрома с с кардиолипином [21].

Метод регистрации хемилюминесценции позволяет изучать интенсивность реакций с участием короткоживущих радикалов. Это возможно благодаря большому количеству энергии, которая образуется в элементарном акте радикальной реакции и частично выделяется в виде фотонов [40].

Представим обобщенные сведения о кинетике реакций, сопровождающихся хемилюминесценцией. В ходе этих реакций исходные вещества R образуют свободные радикалы R^\cdot , способные в последующей реакции привести к образованию электронно-возбужденных продуктов P^* , которые, переходя в основное состояние P, могут высветить фотон ($h\nu$). Возникновение продукта в ЭВС весьма высоко, если активированный комплекс реагентов и продукты реакции имеют состояния с разной мультиплетностью [40]. Для удобства дальнейшего описания рассматриваемых процессов приведем общую схему цепной реакции с образованием и участием свободных радикалов с последующим высвечиванием фотона:



При этом необходимо заметить, что в большинстве случаев спектр хемилюминесценции не соответствует спектру флуоресценции продукта P^* , но соответ-

ствует его спектру фосфоресценции [79]. Это явно указывает на то, что продукты P^* находятся в триплетном возбужденном состоянии.

Интенсивность хемилюминесценции (J) пропорциональна скорости третьей реакции на приведенной схеме (1): $J \propto k_3[\text{P}^*]$.

Из-за большой скорости реакции превращения свободных радикалов в продукты реакции в системе быстро устанавливается стационарное состояние, при котором скорости всех реакций данной цепи равны. Следовательно, интенсивность свечения пропорциональна скорости v_1 образования свободных радикалов (реакция с константой скорости k_1). Отсюда следует, что интенсивность хемилюминесценции пропорциональна также стационарной концентрации свободных радикалов, определить которую можно, зная скорость реакции их образования и константу скорости превращения в продукты в ЭВС [40, 80]:

$$J \propto v_1 = k_2 [\text{R}^\cdot] \quad (2)$$

$$[\text{R}^\cdot] = \frac{v_1}{k_2}. \quad (3)$$

Важно заметить, что как ЭПР-методом, так и флуориметрически и спектроскопически определяют стационарные концентрации веществ, в нашем случае – свободных радикалов $[\text{R}^\cdot]$. По мере увеличения реакционной способности радикалов, т.е. с ростом k_2 , величина $[\text{R}^\cdot]$ падает – уменьшается регистрируемый сигнал. И активные радикалы, даже при крайне высокой степени их образования, не будут регистрироваться ЭПР-методом из-за большого значения k_2 , означающей высокую скорость их превращения в продукты реакции. Однако интенсивность хемилюминесценции зависит не от концентрации радикалов, а от скорости свободнорадикальных реакций. Поэтому при помощи этого метода можно детектировать даже самые активные радикалы, концентрация которых ничтожно мала [80].

Понятие квантового выхода собственной хемилюминесценции

Применительно к явлению хемилюминесценции необходимо рассматривать два понятия квантового выхода: квантовый выход возбуждения (Q_{ex}) – отношение молекул в ЭВС продуктов радикальной реакции к общему числу молекул продуктов реакции; квантовый выход люминесценции (Q_{lum}) – отношение молекул в ЭВС, испустивших фотон, к общему количеству молекул в ЭВС. Общий выход свечения, хемилюминесценции (Q_{ChLum}), равен их произведению: $Q_{\text{ChLum}} = Q_{\text{ex}} \cdot Q_{\text{lum}}$ [40].

Рассмотрим более подробно реакции, приведенные на схеме (1) с константами скоростей k_2 и k_3 :



Это хемилюминесцентная реакция [40].



Это люминесценция [40].



Это безызлучательный переход [40].

Квантовый выход Q_{lum} реакции (5) – это квантовый выход фотолюминесценции продукта, близкий к нулю в большинстве биохимических реакций. Но и квантовый выход Q_{ex} при образовании продуктов в ЭВС крайне низок, так как большая часть молекул в химических реакциях, протекающих в водной среде при обычных температурах, сопровождается образованием молекул не в возбужденном, а в основном электронном состоянии [29] («другие продукты» из реакции (4) с константой k_2). А общий квантовый выход хемилюминесценции, используемый для оценки именно скорости образования свободных радикалов, вычисляется по формуле: $Q_{ChLum} = Q_{ex} \cdot Q_{lum}$ [40]. Это свечение называют сверхслабым именно из-за столь низкого значения квантового выхода биохемилюминесценции [31, 81].

Величину квантовых выходов, а значит, и итоговой интенсивности хемилюминесценции можно вычислить по формулам [40]:

$$Q_{lum} = \frac{k_3}{k_3 + k_{3not}} \quad (7)$$

$$J = k_3 [P^*] = Q_{ex} \frac{k_3}{k_3 + k_{3not}} k_2 [A][B], \quad (8)$$

где k_3 – константа скорости реакции (5), k_{3not} – константа скорости реакции (6), k_2 – константа скорости реакции (4), J – интенсивность хемилюминесценции.

Очевидно, что не каждый квант света, попадающий на хемилюминометр, способен выбить электрон с фотокаатода фотоэлектронного умножителя [31]. Поэтому программное обеспечение современных хемилюминометров учитывает коэффициент светосбора (доля квантов, попавших на фотокаатод, от общего числа квантов, высвеченных изучаемой системой [82]) и квантовый выход фотокаатода (отношение выбитых с катода электронов к числу упавших на катод квантов).

Механизм хемилюминесценции при реакциях перекиса биомолекул

Перекисное окисление липидов – один из основных процессов, способствующих развитию ферроптоза [60, 61, 83] и апоптоза по митохондриальному пути [23]. Поэтому при изучении этих процессов наибольшее внимание уделяется именно радикальным реакциям с участием липидов. Однако схема, описывающая липидные радикальные реакции, сопровождающиеся хемилюминесценцией, в целом справедлива и применима к хемилюминесцентным реакциям белков, что показано И.И. Сапезинским и Е.А. Лисси [75, 84–86], и нуклеиновых кислот в растворах, подвергнутых воздействию низкочастотного электромагнитного излучения [87, 88]. Обратим внимание, что для возбуждения, вызывающего дальнейшую люминесценцию, энергетический выход реакции должен быть не менее 40 ккал/моль (167.5 кДж/моль) [40]. Механизмы генерации люминесценции первоначально были открыты и продолжают изучаться на модельных системах на основе синтетических полимеров [24, 89] и низкомолекулярных органических веществ [26, 90, 91]. К примеру, изучен алкил-радикальный распад полиэтилена [25], а также опубликованы результаты спектрометрического исследования хемилюминесценции, сопровождающей окисление поликарбоната, полистирола и полиэтилметакрилата продуктами температурного распада дициклогексилпероксидикарбоната, приведено значение общего квантового выхода хемилюминесценции, равное 10^{-9} [24].

Перекисаия липидов, которой в наибольшей степени подвержены полиненасыщенные ацилы, представлена в виде не одной реакции, а каскада разветвляющихся цепных реакций [92–94]. Приведем более подробно схему реакции (4) с общей константой скорости k_2 :

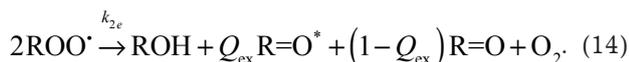


Гидропероксиды липидов ROOH очень легко становятся источниками новых цепей окисления липидов, согласно общим принципам протекания подобных реакций [95, 96]:



Образование кислородсодержащих радикалов – ключевой этап каскада реакций, приводящих в конечном счете к хемилюминесценции. Несмотря на известный факт, что молекулярный кислород является тушителем люминесценции [97], в середине XX века установили, что присутствие кислорода в системе с белками и углеводородами усиливает интенсивность хемилюминесценции [26, 40, 75, 80, 90, 98]. Это позволило предположить, что возбужденные частицы, в конечном итоге испускающие свет, образуются в результате рекомбинации именно кислородсодержащих радикалов. Следует также обратить внимание на то, что, помимо белков и углеводородных группировок, субстратом окисления с последующим высвечиванием фотонов может служить люминол [99, 100]. Однако образующийся в этом случае люминесцирующий продукт находится в синглетном ЭВС, а не в триплетном, в котором пребывают возбужденные продукты свободнорадикальных реакций с участием углеводородных группировок. К слову, люминол широко используется в качестве добавки для усиления интенсивности хемилюминесценции.

Хемилюминесценция, сопровождающая реакции перекисного окисления липидов, обусловлена диспропорционированием радикалов ROO^{\cdot} [27, 90]. В общем виде этот процесс можно описать следующим образом [90]:



Впервые механизм диспропорционирования пероксильных радикалов с образованием карбонильного соединения, спирта и молекулы кислорода был описан Г. Расселлом [101] и впоследствии назван его именем. Реакция (14) является реакцией обрыва цепи радикального окисления, в то время как реакция (10) – это реакция продолжения цепи. Г. Расселл определил среднее отношение скорости реакции (10) к скорости реакции (14), равное 7.4 для углеводородной модельной системы [101].

Реакция (14) – это реакция второго порядка. Следовательно, к ней можно применить общеизвестное математическое выражение:

$$\frac{1}{C} - \frac{1}{C_0} = k_{2e} t, \quad (15)$$

где t – время, прошедшее от начала реакции, C и C_0 – концентрации радикалов ROO^{\cdot} в момент времени t и в начале реакции соответственно. Однако М. Дол [102] указывает на то, что часть радикалов ROO^{\cdot} в системе может не вступать в реакцию диспропорционирования. Концентрацию этих радикалов обозначим буквой A . Тогда согласно [102], формула (15)

приобретает вид (для удобства восприятия представим выражение в двух видах):

$$\frac{t}{C_0 - C} = \frac{1}{(C_0 - A)^2 4\pi D r_0} + \frac{t}{C_0 - A} - \frac{1}{2\pi D (C_0 - A)^2 (2r_0 + \sqrt{\pi D t})}$$

$$\frac{t}{C_0 - C} = \frac{\sqrt{\pi D t} + 4\pi D r_0 t (C_0 - A) (2r_0 + \sqrt{\pi D t})}{4\pi D r_0 (C_0 - A)^2 (2r_0 + \sqrt{\pi D t})}, \quad (16)$$

где r_0 – расстояние между радикалами, в пределах которого они реагируют, D – сумма коэффициентов диффузии реагентов.

Высвечивание фотона происходит при переходе кетона, образовавшегося в ходе реакции (14) из триплетного ЭВС в основное:



При этом выделяется свет с максимумом интенсивности в области 450–550 нм [103].

Реакция (14) протекает через образование тетраоксида с последующим его распадом на спирт и бирадикал вследствие механического напряжения в скелете молекулы – это момент разделения электронов в молекуле. После этого происходит выделение молекулы кислорода и образуется кетон в триплетном ЭВС [27, 80]. Однако тетраоксид с высокой долей вероятности может вновь распасться на два липопероксильных радикала. В пользу этого говорит тот факт, что константа скорости диффузии этих радикалов на порядки выше, чем константа скорости реакции их диспропорционирования [27]. Графически механизм Расселла представлен на рис. 2А. Отметим, что образовавшийся кислород может находиться в синглетном ЭВС. Согласно [104], квантовый выход возбуждения молекулы O_2 в данном случае составляет $\approx 11\%$. При переходе кислорода в основное состояние наблюдается люминесценция с максимумом в области 634 и 703 нм [103, 105].

В силу крайне низких значений квантовых выходов образования возбужденных молекул кетона и их люминесценции (в данном случае фосфоресценции) общий квантовый выход хемилюминесценции составляет всего порядка 10^{-8} [80].

Связь между концентрацией липопероксильных радикалов и интенсивностью свечения J следует из уравнения [24, 40]:

$$J = Q_{\text{ChLum}} k_{2e} [\text{ROO}^{\cdot}]^2, \quad (18)$$

антиоксидантов. Метод регистрации хемилюминесценции является удобным инструментом исследования перекисного окисления липидов. Данный метод широко применяли представители научной школы Р.Ф. Васильева [111–116], Ю.А. Владимирова [62, 117–119], А.И. Журавлева [31] и другие авторы [17, 30, 120–127].

В настоящее время актуальным вновь становится изучение кинетики перекисаации липидов, вызванной свободными ионами железа. Связано это с открытием в 2012 году еще одного способа запрограммированной гибели клетки – ферроптоза [61], некрозоподобной гибели клетки, обусловленной окислением митохондриальных структур, в первую очередь мембран, индуцированным ионами железа через реакцию Фентона [59, 83, 93].

При помощи регистрации собственной хемилюминесценции исследуют различные модельные биологические системы [29, 128, 129]. Хемилюминесценция тканей помимо перекисаации липидов обусловлена также синтезом NO, что показано группой под руководством Тьюренса на перфузируемом легком и на модельных системах [130, 131], а также взаимодействием пероксинитрита с белками [132], причем наибольший вклад в свечение вносит взаимодействие пероксинитрита с триптофаном, несколько меньший – с фенилаланином [131]. Метод регистрации собственной хемилюминесценции с успехом исполь-

зован при изучении перекисаации липидов в составе липопротеинов низкой плотности плазмы крови, стимулированной нейтрофилами [133].

Однако интенсивность собственной хемилюминесценции в абсолютном большинстве случаев крайне мала [29, 31, 134], что сильно усложняет ее регистрацию. К тому же зачастую необходимо исследовать конкретные радикалы, к примеру, реакции перекисаации липидов, т.е. оценить наличие в исследуемой системе именно липидных радикалов, но метод регистрации собственной хемилюминесценции абсолютно неспецифичен [29]. Поэтому в большинстве исследований приходится использовать специальные люминесцирующие добавки, усиливающие свечение за счет миграции на них энергии электронного возбуждения с молекул продуктов свободнорадикальных реакций с последующим высвечиванием фотонов с большим квантовым выходом, чем у этих продуктов. Такие вещества можно назвать усилителями, или активаторами хемилюминесценции, и о них речь пойдет в следующей части обзора. ●

Автор настоящего обзора благодарит Н.П. Лысенко, профессора кафедры радиобиологии и вирусологии имени академиков А.Д. Белова и В.Н. Сюрин ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина, за помощь в подготовке англоязычной версии статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Листов М.В., Мамыкин А.И., Рассадина А.А. // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2017. Т. 2. С. 259–266.
- Листов М.В., Мамыкин А.И. // Вестник Российской военной медицинской академии. 2018. Т. 4. № 64. С. 117–122.
- Тропская Н.С., Кислякова Е.А., Вилкова И.Г., Кислицына О.С., Гурман Ю.В., Попова Т.С., Байматов В.Н. // Бюл. экп. биологии и медицины. 2020. Т. 169. № 3. С. 391–396.
- Miller G.W., Labut E.M., Lebold K.M., Floeter A., Tanguay R.L., Traber M.G. // J. Nutr. Biochem. 2012. V. 23(5). P. 478–486.
- Листов М.В., Мамыкин А.И. // Клин. патофизиология. 2014. Т. 3. С. 34–39.
- Liang X.G., Cheng J., Qin S., Shao L.X., Huang M.Z., Wang G., Han Y., Han F., Li X. // Chem. Commun. 2018. V. 54. № 85. P. 12010–12013.
- Владимиров Ю.А., Львова О.Ф. // Биофизика. 1964. № 9(4). С. 506–507.
- Владимиров Ю.А., Львова О.Ф., Черемисина З.П. // Биохимия. 1966. Т. 31(3). С. 507–514.
- Львова О.Ф., Владимиров Ю.А. // Труды Мос. общества испытателей природы. 1966. Т. 16. С. 214–217.
- Maune B.C. // Brookhaven Symposia Biology. 1966. V. 19. P. 460–466.
- Тарусов Б.Н., Поливода А.И., Журавлев А.И. // Биофизика. 1961. Т. 6. № 4. С. 490–492.
- Байматов В.Н., Хромова Е.В., Рыбкова О.О. // Кролиководство и звероводство. 2016. № 6. С. 27–28.
- Hughes D.L., Richards R.S., Lexis L.A. // Luminescence: J. Biol. Chem. Luminescence. 2018. V. 33. № 4. P. 764–770.
- Ding L., Wu Y., Duan Y., Yu S., Yu F., Wang J., Tian Y., Gao Z., Wan Z., He L. // ACS Sensors. 2020. V. 5. № 2. P. 440–446.
- Jantan I., Harun N.H., Septama A.W., Murad S., Mesaik M.A. // J. Nat. Med. 2011. V. 65. № 2. P. 400–405.
- Каражаева М.И., Саксонова Е.О., Клебанов Г.И., Любичкий О.Б., Гурьева Н.В. // Вестник офтальмологии. 2004. Т. 120. № 4. С. 14–18.
- Krasowska A., Piasecki A., Murzyn A., Sigler K. // Folia Microbiol. 2007. V. 52. № 1. P. 45–51.
- Lynch D.V., Thompson J.E. // FEBS Lett. 1984. V. 173. № 1. P. 251–254.
- Wildhagen M., Albert M., Butenko M.A. // Meth. Mol. Biol. 2017. V. 1610. P. 287–295.
- Ромодин Л.А., Владимиров Ю.А., Лысенко Н.П., Зарудная Е.Н. // Изв. Международной акад. аграрного образования. 2018. Т. 1. № 42. С. 112–117.
- Ромодин Л.А., Шангин С.В., Владимиров Ю.А., Лысенко Н.П., Храмов А.П. // Изв. Международной акад. аграрного образования. 2018. Т. 1. № 42. С. 118–123.
- Jain R., Sharma D., Kumar R. // J. Biochem. 2019. V. 165. № 2. P. 125–137.
- Владимиров Ю.А., Проскурнина Е.В., Алексеев А.В. // Биохимия. 2013. Т. 78. № 10. С. 1391–1404.
- Phillips D., Anissimov V., Karpukhin O., Shlyapintokh V. //

- Photochem. Photobiol. 1969. V. 9. № 2. P. 183–187.
25. Wen W.Y., Johnson D.R., Dole M. // *Am. Chem. Soc.* 1974. V. 7. № 2. P. 199–204.
26. Vassil'ev R.F., Vichutinskii A.A. // *Nature*. 1962. V. 194. № 4835. P. 1276–1277.
27. Belyakov V.A., Vassil'ev R.F. // *Photochem. Photobiol.* 1970. V. 11. № 3. P. 179–192.
28. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.: Наука, 1972. 252 с.
29. Владимиров Ю.А., Проскурнина Е.В. // *Успехи биол. химии*. 2009. Т. 49. С. 341–388.
30. Байматов В.Н., Багаутдинов А.М., Байматов Н.В. Механизмы коррекции свободнорадикального окисления антиоксидантами. Уфа: РИЦ БашГАУ, 2008. 312 с.
31. Журавлев А.И., Зубкова С.М. Антиоксиданты. Свободнорадикальная патология, старение. М.: Белые альфы, 2014. 304 с.
32. Lepeschkin W.W. // *Science*. 1932. V. 76. № 1975. P. 409.
33. Lepeschkin W.W. // *Science*. 1932. V. 76. № 1964. P. 168.
34. Гурвич А.Г. Митогенетическое излучение. М.: Госмедиздат, 1934.
35. Boveris A., Cadenas E., Chance B. // *Fed. Proc.* 1981. V. 40. № 2. P. 195–198.
36. Colli L., Facchini U. // *Nuovo Cimento*. 1954. V. 12. № 1. P. 150–153.
37. Allen R.C., Stjernholm R.L., Steele R.H. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1972. V. 47. № 4. P. 679–684.
38. Stjernholm R.L., Allen R.C., Steele R.H., Waring W.W., Harris J.A. // *Infection Immunity*. 1973. V. 7. № 2. P. 313–314.
39. Vassil'ev R.F. // *Nature*. 1962. V. 196. № 4855. P. 668–669.
40. Шляпинтох В.Я., Карпунин О.Н., Постников Л.М., Захаров И.В., Вичутинский А.А., Цепалов В.Ф. Хемилюминесцентные методы исследования медленных химических процессов. Москва: Наука, 1966. 300 с.
41. Gomberg M. // *J. Chem. Edu.* 1932. V. 9. № 3. P. 439–451.
42. Gomberg M. // *J. Am. Chem. Soc.* 1903. V. 25. № 12. P. 1274–1277.
43. Gomberg M. // *J. Am. Chem. Soc.* 1901. V. 23. № 7. P. 496–502.
44. Fischer V., Mason R.P. // *J. Biol. Chem.* 1984. V. 259. № 16. P. 10284–10288.
45. Fischer V., West P.R., Harman L.S., Mason R.P. // *Envi. Hlth Persp.* 1985. V. 64. P. 127–137.
46. Michaelis L. // *Am. Sci.* 1946. V. 34. № 4. P. 573–596.
47. Michaelis L., Schubert M.P., Smythe C.V. // *Science*. 1936. V. 84. № 2171. P. 138–139.
48. Granick S., Michaelis L., Schubert M.P. // *Science*. 1939. V. 90. № 2340. P. 422–423.
49. Дизрегуляторная патология: Руководство для врачей и биологов. М.: Медицина, 2002. С. 140–151.
50. Babior V.M. // *Adv. Enzymol. Related Areas Mol. Biol.* 1992. V. 65. P. 49–95.
51. Babior V.M. // *J. Clin. Invest.* 1984. T. 73. № 3. С. 599–601.
52. Листов М.В., Мамыкин А.И. // *Клин. патофизиология*. 2015. № 2. С. 54–58.
53. Владимиров Ю.А. // *Вестн. Рос. акад. мед. наук*. 1998. № 7. С. 43–51.
54. Лобачев В.Л., Рудаков Е.С. // *Успехи химии*. 2006. Т. 75. № 5. С. 422–444.
55. Узбеков М.Г. // *Социальная клиническая психиатрия*. 2014. Т. 24. № 4. С. 97–103.
56. Benhar M. // *Free Rad. Biol. Med.* 2018. V. 127. P. 160–164.
57. Панасенко О.М., Горудко И.В., Соколов А.В. // *Успехи биол. химии*. 2013. Т. 53. С. 195–244.
58. Kagan V.E., Tyurin V.A., Jiang J., Tyurina Y.Y., Ritov V.B., Amoscato A.A., Osipov A.N., Belikova N.A., Kapralov A.A., Kini V.V., et al. // *Nat. Chem. Biol.* 2005. V. 1. P. 223–232.
59. Chen G., Guo G., Zhou X., Chen H. // *Oncol. Lett.* 2020. V. 19. № 1. P. 579–587.
60. Lei G., Zhang Y., Koppula P., Liu X., Zhang J., Lin S.H., Ajani J.A., Xiao Q., Liao Z., Wang H., et al. // *Cell Res.* 2020. V. 30. P. 146–162.
61. Dixon S.J., Lemberg K.M., Lamprecht M.R., Skouta R., Zaitsev E.M., Gleason C.E., Patel D.N., Bauer A.J., Cantley A.M., Yang W.S., et al. // *Cell*. 2012. V. 149. № 5. P. 1060–1072.
62. Демин Е.М., Проскурнина Е.В., Владимиров Ю.А. // *Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2: Химия*. 2008. Т. 49. № 5. С. 354–360.
63. Capdevila D.A., Oviedo Rouco S., Tomasina F., Tortora V., Demicheli V., Radi R., Murgida D.H. // *Biochemistry*. 2015. V. 54. № 51. P. 7491–7504.
64. Kobayashi H., Nagao S., Hirota S. // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2016. V. 55. № 45. P. 14019–14022.
65. Singh H., Pritchard E.T. // *Can. J. Biochem. Physiol.* 1962. V. 40. P. 317–318.
66. Ruottinen M., Kuosmanen V., Saimanen I., Kaaronen V., Rahkola D., Holopainen A., Selander T., Kokki H., Kokki M., Eskelinen M. // *Anticancer Res.* 2020. V. 40. № 1. P. 253–259.
67. Бельская Л.В., Косенок В.К., Массард Ж., Завьялов А.А. // *Вестн. РАМН*. 2016. Т. 71(4). С. 313–322.
68. Login C.C., Baldea I., Tipericiu B., Benedec D., Vodnar D.C., Decea N., Suciuc S. // *Oxidative Med. Cell. Long.* 2019. V. 2019. P. 1607903.
69. Тарасов С.С., Корякин А.С. // *Вестн. Перм. ун-та. Сер.: Биология*. 2016. Вып. 3. С. 292–296.
70. Shaw S., Rubin K.P., Lieber C.S. // *Digestive Dis. Sci.* 1983. V. 28. № 7. P. 585–589.
71. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З. Окислительный стресс. Патологические состояния и заболевания. Новосибирск: АРТА, 2008. 284 с.
72. Cole T., Heller C., McConnell H.M. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1959. V. 45. № 4. P. 525–528.
73. Hole E.O., Sagstuen E., Nelson W.H., Close D.M. // *Radiation Res.* 2000. V. 153. № 6. P. 823–834.
74. Chiesa M., Giamello E., Livraghi S., Paganini M.C., Polliotto V., Salvadori E. // *J. Physics. Condensed Matter: an Institute of Physics journal*. 2019. T. 31. № 44. С. 444001.
75. Сапезинский И.И., Эмануэль Н.М. // *ДАН СССР*. 1965. Т. 165. № 4. С. 845–847.
76. Осипов А.Н., Савов В.М., Яхъяев А.В., Зубарев В.Е., Азизова О.А., Каган В.Е., Владимиров Ю.А. // *Биофизика*. 1984. № 29(4). С. 533–536.
77. Азизова О.А., Осипов А.Н., Савов В.М., Яхъяев А.В., Зубарев В.Е., Каган В.Е., Владимиров Ю.А. // *Биофизика*. 1985. № 30(1). С. 36–39.
78. Gazarian I.G., Lagrimini L.M., Mellon F.A., Naldrett M.J., Ashby G.A., Thorneley R.N. // *Biochem. J.* 1998. V. 333(Pt 1). P. 223–232.
79. Shliapintokh V.J., Vasil'ev R.F., Karpukhine O.N., Postnikov L.M., Kibalko L.A. // *J. Chim. Phys.* 1960. V. 57. P. 1113–1122.
80. Vassil'ev R.F. // *Progress Reaction Kinetics*. 1967. V. 4. P. 305–352.
81. Владимиров Ю.А. Сверхслабые свечения при биохимических реакциях. Москва: Наука, 1966. 126 с.
82. Маргулис Г.В. // *Сверхслабые свечения в биологии / Под редакцией Журавлева А.И. М.: Наука. 1972. С. 72–75.*
83. Proneth B., Conrad M. // *Cell Death Differ.* 2019. V. 26. № 1. P. 14–24.
84. Aspee A., Lissi E.A. // *J. Protein Chem.* 2001. V. 20. № 6. P. 479–485.
85. Aspee A., Lissi E.A. // *Luminescence: J. Biol. Chem. Luminescence*. 2000. V. 15. № 5. P. 273–282.

86. Lissi E.A., Caceres T., Videla L.A. // *Free Rad. Biol. Med.* 1988. V. 4. № 2. P. 93–97.
87. Новиков В.В., Пономарев В.О., Новиков Г.В., Кувичкин В.В., Яблокова Е.В., Фесенко Е.Е. // *Биофизика*. 2010. Т. 55. № 4. С. 631–639.
88. Текуцкая Е.Е., Барышев М.Г., Ильченко Г.П. // *Биофизика*. 2015. Т. 60. № 6. С. 1099–1103.
89. Gnaïm S., Shabat D. // *J. Am. Chem. Soc.* 2017. V. 139. № 29. P. 10002–10008.
90. Belyakov V.A., Vasil'ev R.F. // *Photochem. Photobiol.* 1967. V. 6. № 1. P. 35–40.
91. Melville H.W., Richards S. // *J. Chem. Soc.* 1954. P. 944–952.
92. Викулина А.С., Алексеев А.В., Проскурнина Е.В., Владимиров Ю.А. // *Биохимия*. 2015. Т. 80. № 10. С. 1573–1578.
93. Yang W.S., Stockwell B.R. // *Trends Cell Biol.* 2016. V. 26. № 3. P. 165–176.
94. Vladimirov Y.A., Olenov V.I., Suslova T.B., Cheremisina Z.P. // *Adv. Lipid Res.* 1980. V. 17. P. 173–249.
95. Семенов Н.Н. // *Успехи химии*. 1976. Т. 36. № 1. С. 3–33.
96. Семенов Н.Н. // *Успехи физ. наук*. 1931. Т. 11. № 2. С. 250–275.
97. Pringsheim P. *Fluorescence and Phosphorescence*. New York and London: Intersci. Publ. 1949. 794 p.
98. Конев С.В. *Электронно-возбужденные состояния биополимеров*. Минск: Наука и техника, 1965. 186 с.
99. De Oliveira S., De Souza G.A., Eckert C.R., Silva T.A., Sobral E.S., Fávero O.A., Ferreira M.J.P., Romoff P., Baader W.J. // *Química Nova*. 2014. V. 37. № 3. P. 497–503.
100. Bastos E.L., Romoff P., Eckert C.R., Baader W.J. // *J. Agricult. Food Chem.* 2003. V. 51. № 25. P. 7481–7488.
101. Russell G.A. // *J. Am. Chem. Soc.* 1957. V. 79(14). P. 3871–3877.
102. Dole M. // *J. Phys. Chem.* 1987. V. 91. № 12. P. 3117–3119.
103. Timmins G.S., Dos Santos R.E., Whitwood A.C., Catalani L.H., Di Mascio P., Gilbert B.C., Bechara E.J. // *Chem. Res. Toxicol.* 1997. V. 10. № 10. P. 1090–1096.
104. Niu Q., Mendenhall G.D. // *J. Am. Chem. Soc.* 1990. V. 112. № 4. P. 1656–1657.
105. Cadenas E. // *Annu. Rev. Biochem.* 1989. V. 58. P. 79–110.
106. Cilento G., Adam W. // *Free Rad. Biol. Med.* 1995. V. 19. № 1. P. 103–114.
107. Vasil'ev R.F., Trofimov A.V. // *Kinetics Catalysis*. 2009. V. 50. № 4. P. 540–542.
108. Sharov V.S., Driomina E.S., Vladimirov Y.A. // *J. Bolum. Chemilum.* 1996. V. 11. № 2. P. 91–98.
109. Владимиров Ю.А., Сулова Т.Б., Оленев В.И. // *Биофизика*. 1969. Т. 14. № 5. С. 836–845.
110. Владимиров Ю.А., Гутенев П.И., Кузнецов П.И. // *Биофизика*. 1973. Т. 18. № 6. С. 1024–1029.
111. Васильев Р.Ф., Вепринцев Т.Л., Долматова Л.С., Наумов В.В., Трофимов А.В., Цаплев Ю.Б. // *Кинетика и катализ*. 2014. Т. 55. № 2. С. 157–162.
112. Васильев Р.Ф., Кънчева В.Д., Федорова Г.Ф., Бътовска Д.И., Трофимов А.В. // *Кинетика и катализ*. 2010. Т. 51. № 4. С. 533–541.
113. Fedorova G.F., Menshov V.A., Trofimov A.V., Vasil'ev R.F. // *The Analyst*. 2009. V. 134. № 10. P. 2128–2134.
114. Slavova-Kazakova A.K., Angelova S.E., Vepreintsev T.L., Denev P., Fabbri D., Dettori M.A., Kratchanova M., Naumov V.V., Trofimov A.V., Vasil'ev R.F., et al. // *Beilstein J. Organic Chem.* 2015. V. 11. P. 1398–1411.
115. Fedorova G.F., Menshov V.A., Trofimov A.V., Tsaplev Y.B., Vasil'ev R.F., Yablonskaya O.I. // *Photochem. Photobiol.* 2017. V. 93. № 2. P. 579–589.
116. Fedorova G.F., Lapina V.A., Menshov V.A., Naumov V.V., Trofimov A.V., Tsaplev Y.B., Vasil'ev R.F., Yablonskaya O.I. // *Photochem. Photobiol.* 2019. V. 95. № 3. P. 780–786.
117. Владимиров Ю.А., Сергеев П.В., Сейфулла Р.Д., Руднев Ю.Н. // *Молекуляр. биология*. 1973. Т. 7. № 2. С. 247–253.
118. Ли Х.И., Владимиров Ю.А., Деев А.И. // *Биофизика*. 1990. Т. 35. № 1. С. 82–85.
119. Рубене Д.Я., Шаров В.С., Оленев В.И., Тирзит Г.Д., Дубур Г.Я., Владимиров Ю.А. // *Журн. физ. химии*. 1981. Т. 55. № 2. С. 511–512.
120. Tsukagoshi K., Taniguchi T., Nakajima R. // *Anal. Chim. Acta*. 2007. V. 589. № 1. P. 66–70.
121. Saleh L., Plieth C. // *Nat. Protocols*. 2010. V. 5. № 10. P. 1627–1634.
122. Mcdermott G.P., Conlan X.A., Noonan L.K., Costin J.W., Mnatsakanyan M., Shalliker R.A., Barnett N.W., Francis P.S. // *Anal. Chim. Acta*. 2011. V. 684. № 1–2. P. 134–141.
123. Ginsburg I., Kohen R., Shalish M., Varon D., Shai E., Koren E. // *PLoS One*. 2013. V. 8. № 5. P. e63062.
124. Xie G.Y., Zhu Y., Shu P., Qin X.Y., Wu G., Wang Q., Qin M.J. // *J. Pharmaceut. Biomed. Analysis*. 2014. V. 98. P. 40–51.
125. Malejko J., Nalewajko-Sieliwoniuk E., Szabunko J., Nazaruk J. // *Phytochem. Analysis: PCA*. 2016. V. 27. № 5. P. 277–283.
126. Sun S., Xu S., Xu Y., Guo L., Liu H., Yang L., Wang Z. // *Anal. Chim. Acta*. 2019. V. 1046. P. 148–153.
127. Kishikawa N., El-Maghrabey M., Nagamune Y., Nagai K., Ohyama K., Kuroda N. // *Anal. Chem.* 2020. V. 92. № 10. P. 6984–6992.
128. Волкова П.О., Алексеев А.В., Джатдоева А.А., Проскурнина Е.В., Владимиров Ю.А. // *Вест. МГУ. Сер. 2: Химия*. 2016. Т. 57. № 1. С. 41–52.
129. Vladimirov Yu.A., Proskurnina E.V., Izmajlov D.Yu. // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2007. V. 144. № 3. P. 390–396.
130. Barnard M.L., Robertson B., Watts B.P., Turrens J.F. // *Am. J. Physiol.* 1997. V. 272. № 2. Pt 1. P. L262–L267.
131. Pollet E., Martinez J.A., Metha B., Watts B.P., Jr., Turrens J.F. // *Arch. Biochem. Biophys.* 1998. V. 349. № 1. P. 74–80.
132. Watts B.P., Jr., Barnard M., Turrens J.F. // *Arch. Biochem. Biophys.* 1995. V. 317. № 2. P. 324–330.
133. Vladimirov Yu.A., Ribarov S.R., Bochev P.G., Benov L.C., Klebanov G.I. // *Gen. Physiol. Biophys.* 1990. V. 9. № 1. P. 45–54.
134. Викулина А.С., Джатдоева А.А., Лобиченко Е.Н., Проскурнина Е.В., Владимиров Ю.А. // *Журн. аналит. химии*. 2017. Т. 72. № 7. С. 639–644.