

## ОБЗОРЫ

*УДК 615.015:616-001.8***АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА В ФИЗИОЛОГИИ И ПАТОЛОГИИ КЛЕТКИ****© Пожилова Е.В., Новиков В.Е., Левченкова О.С.***Смоленский государственный медицинский университет, Россия, 214019, Смоленск, ул. Крупской, 28*

**Резюме:** В статье представлен анализ современных научных исследований о роли активных форм кислорода (АФК) в физиологии и патологии клетки. Рассмотрены ключевые вопросы генерации АФК, их сигнальная функция, роль в патологии клетки, функционирование антиоксидантной системы. Обосновывается возможность фармакологической регуляции активности реакций свободнорадикального окисления, что имеет важное практическое значение для эффективной фармакотерапии многих заболеваний, в патогенезе которых установлено деструктивное действие АФК.

**Ключевые слова:** активные формы кислорода (АФК), свободнорадикальное окисление (СРО), гипоксия, ишемия

**REACTIVE OXYGEN SPECIES IN CELL PHYSIOLOGY AND PATHOLOGY****Pozhilova E.V., Novikov V.E., Levchenkova O.S.***Smolensk State Medical University, Russia, 214019, Smolensk, Krupskaya St., 28*

**Summary:** This paper is a review on modern scientific investigations concerning the role of reactive oxygen species (ROS) in cellular physiology and pathophysiology. Key issues of ROS generation, their function in signaling pathways and role in cellular pathology as well as functioning of the antioxidant system are discussed in the paper. The paper also summarizes literature data on potentials of pharmacological regulation of the activity of free radical oxidation reactions having practical significance for efficient pharmacotherapy of diseases involving destructive action of reactive oxygen species.

**Key words:** reactive oxygen species (ROS), free radical oxidation, hypoxia, ischemia

**Введение**

Научные исследования свидетельствуют о том, что активные формы кислорода (АФК) играют значительную роль в регуляции основных функций клетки, как в обычных условиях, так и при воздействии на клетку различных патогенных факторов [8, 24]. При этом следует отметить, что АФК в зависимости от силы воздействующего на клетку патогенного фактора могут выступать либо индукторами процессов адаптации, либо индукторами апоптоза. Кроме того, АФК способны оказывать прямое деструктивное действие на клеточные структуры, а также инициировать свободнорадикальное окисление липидов, белков, нуклеиновых кислот, что лежит в основе патогенеза многих заболеваний [28, 32, 33]. Свои физиологические и патологические эффекты АФК реализуют в тесном взаимодействии с другими регуляторными факторами клетки, модулируя их активность [4, 16, 18, 41].

Знание ключевых вопросов свободнорадикального окисления (СРО), механизмов генерации АФК, их регуляторной и деструктивной роли в процессах клеточного метаболизма, функционирования антиоксидантной системы клетки необходимы для практической реализации возможности фармакологической регуляции СРО путем таргетного воздействия на отдельные компоненты и этапы этого процесса. Такой подход позволяет разрабатывать новые лекарственные средства направленного действия и проводить оптимизацию антирадикальной и антиоксидантной фармакотерапии заболеваний, в генезе которых деструктивную роль выполняют АФК, например, при заболеваниях, связанных с гипоксией и реоксигенацией, ишемией и реперфузией, дегенеративных поражениях нервной системы и других [3, 6, 11, 22, 31].

**Генерация активных форм кислорода в клетке**

Активные формы кислорода в клетке образуются в процессе различных окислительно-восстановительных реакций (известно большое количество ферментативных и спонтанных

реакций, в результате которых образуются свободные радикалы кислорода). К АФК относятся супероксид анион-радикал ( $O_2^{\cdot-}$ ), перекись водорода ( $H_2O_2$ ), гидроксильный радикал ( $\cdot OH$ ), синглетный кислород ( $^1O_2$ ), гипохлорит ( $HOCl$ ). К АФК также можно отнести окись азота ( $NO$ ) и пероксинитрит ( $ONOO^{\cdot-}$ ), обладающие высокой окислительной активностью.

Источники АФК в клетке хорошо известны. Одним из главных генераторов АФК в клетке являются пероксисомы, в которых локализован целый ряд ферментов, связанных с метаболизмом перекиси водорода. Перекись водорода используется клеткой в основном для детоксикации ксенобиотиков, и практически вся утилизируется внутри этих органелл. В гладком эндоплазматическом ретикулуме локализован ряд цитохром-зависимых оксигеназ, продуцирующих супероксидный радикал. В плазмалемме макрофагов и эндотелиоцитов существует НАД(Ф)Н-оксидазная система, продуцирующая супероксид анион в ходе иммунного и воспалительного ответа. При этом фагоциты быстро поглощают большое количество  $O_2$  (дыхательный «взрыв»), образуя с внешней стороны мембраны супероксид  $O_2^{\cdot-}$  за счет окисления цитозольного НАД(Ф)Н:  $2O_2 + НАД(Ф)Н \rightarrow O_2^{\cdot-} + НАД(Ф)^+ + H^+$ .

Дыхательная цепь митохондрий служит основным источником активных форм кислорода в клетках [1]. Это объясняется тем, что в дыхательной цепи происходит «утечка» электронов с I и III-го митохондриальных ферментных комплексов (МФК), за счет чего около 2-5% поступающего кислорода переходит в активную форму, при этом часть АФК идет на окислительную модификацию макромолекул. Продукция  $O_2^{\cdot-}$  в митохондриях осуществляется несколькими путями и значительно зависит от активности дыхания и изменений парциального напряжения кислорода (гипоксия или реоксигенация). Основным местом утечки электронов из дыхательной цепи и, следовательно, образования  $O_2^{\cdot-}$  является убихинол цитохром С оксидоредуктаза, где генерация АФК происходит за счет одноэлектронного восстановления молекулярного кислорода от убисемихинона [34]. В НАДН-убихинон-редуктазе источником  $O_2^{\cdot-}$  служит семихиноновая форма флавина. При изменении интенсивности потока электронов и степени восстановленности компонентов дыхательной цепи митохондрий изменяется и количество выпадающих электронов. Так, например, в присутствии цианида и ротенона продукция супероксида понижается, а при добавлении ингибитора комплекса III антимицина А (приводит к увеличению пула семихинонов), образование АФК вследствие окисления субстрата I или II комплексами увеличивается. Таким образом, одним из главных источников активных форм кислорода в митохондриях является Q-цикл. В двух Q-связывающих сайтах комплекса III происходит генерация убисемихинон анион-радикала, который способен реагировать с молекулярным кислородом с образованием убихинона и супероксида:  $UQ^{\cdot-} + O_2 \rightarrow UQ + O_2^{\cdot-}$ .

АФК реакционноспособны и легко переходят из одной формы в другую, окисляя при этом различные молекулы. Так, в результате утечки электронов из дыхательной цепи и в реакциях НАД(Ф)Н-оксидазы и ксантин-оксидазы первым образуется супероксид анион-радикал, который очень быстро дисмутирует до перекиси водорода (рис. 1).

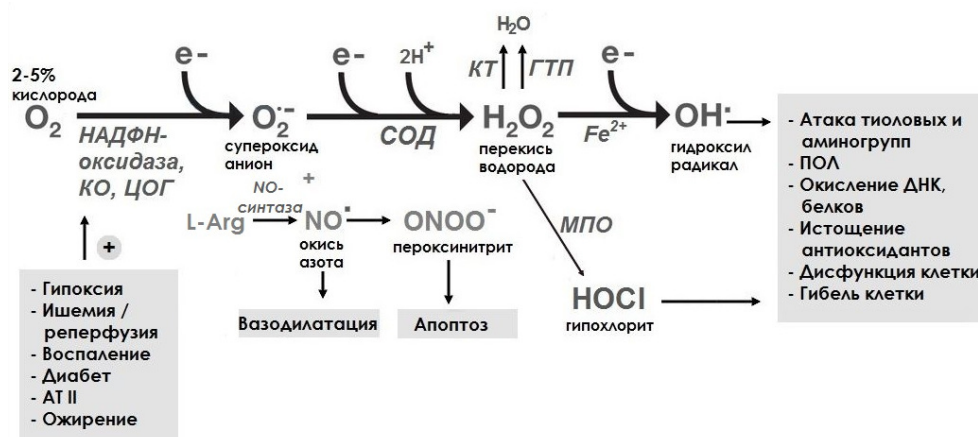


Рис. 1. Образование активных форм кислорода и их воздействие на клетку. КО – ксантинооксидаза, ЦОГ – циклооксигеназа, АТ II – ангиотензин II, L-Arg – L-аргинин, СОД – супероксиддисмутаза, КТ – каталаза, ГТП – глутатионпероксидаза, МПО – миелопероксидаза, ПОЛ – перекисное окисление липидов

Самым стабильным соединением из возможных восстановленных форм кислорода является перекись водорода. Она обладает меньшей реакционной способностью, нежели другие формы. Молекула  $H_2O_2$  способна свободно перемещаться в клетке и довольно долго сохраняться в ней. Перекись водорода не столь активна, чтобы существенно повредить клеточные структуры, и играет роль сигнальной молекулы. При этом в присутствии активаторов (металлов переменной валентности, главным образом  $Fe^{2+}$ , а также  $Cu^{2+}$  и др., входящих в состав ряда ферментов) из перекиси и супероксида образуется гидроксильный радикал. Гидроксильный радикал является самым опасным и обладает наивысшей реакционной способностью среди всех АФК [1]. Он мог бы разрушить практически все клеточные структуры, но имеет очень короткое время жизни (несколько наносекунд) и не способен диффундировать на значительные расстояния от места образования. Супероксид анион способен реагировать с оксидом азота (II) с образованием активного оксиданта пероксинитрита. При избытке супероксида он может переводить трехвалентное железо в 2-валентное, которое при взаимодействии с  $H_2O_2$ ,  $HOCl$  и липоперекисями образует гидроксильный радикал ( $\cdot OH$ ) или липидные радикалы ( $L\cdot$ ,  $LO\cdot$ ,  $LOO\cdot$ ). АФК можно разделить на 3 типа:

- первичные (индуцирующие) образуются при окислении некоторых молекул. К ним относятся супероксид анион  $O_2^{\cdot -}$  и оксид азота  $NO$ . Обладают регуляторным действием;
- вторичные образуются вследствие атаки супероксида других молекул. К ним относятся гидроксильный радикал, пероксинитрит и радикалы липидов. Обладают сильным токсическим действием вследствие своей способности необратимо повреждать липиды мембран, молекулы ДНК и белков;
- третичные образуются вследствие соединения вторичных радикалов с молекулами антиоксидантов и других легко окисляющихся соединений. Их роль может быть различной.

Долгое время полагали, что АФК являются исключительно токсичными для клетки метаболитами, что требует наличия в клетке мощной антиоксидантной системы для борьбы с ними. Однако по мере изучения их функциональной роли стало ясно, что АФК не всегда пагубно влияют на клетку. Они также участвуют в реализации ряда физиологических процессов клетки.

### Сигнальная роль активных форм кислорода

В научной литературе накопилось немало сведений о сигнальной роли АФК. Они принимают участие в передаче внутриклеточных сигналов от различных факторов роста, способны изменять активность различных транскрипционных белков [30]. Так, например, есть данные, что АФК участвуют в качестве сигнальных молекул при активации транскрипционных ядерных факторов AP-1 (активирующий протеин-1) и NF- $\kappa$ B (nuclear factor  $\kappa$ B – ядерный фактор каппа-би) и индукции экспрессии генов при иммунном ответе. АФК могут выступать в качестве индукторов клеточной гибели (апоптоза) или, наоборот, ингибировать цитотоксическое действие лекарственных препаратов на опухолевые клетки [35]. Возможно, что АФК могут выступать в роли митотических стимуляторов, в небольших концентрациях стимулируя деление клеток различных тканей.

Имеются также данные об участии АФК в регуляции редокс-статуса клетки и окислительных модификаций белков. Регуляция редокс-сигнализации может осуществляться как через общий уровень глутатиона (GSH) в клетке, так и через соотношение GSH/GSSH. Глутатион (трипептид Glu-Cys-Gly) находится почти во всех клетках в высокой концентрации и содержит нетипичную  $\gamma$ -связь между Glu и Cys. Восстановителем в этом соединении является тиольная группа цистеинового остатка. Две молекулы восстановленной формы (GSH) при окислении образуют дисульфид (GSSG). Окислительные модификации затрагивают, как правило, остатки цистеина в функциональных доменах различных белков, приводя к инактивации ферментов, изменению способности связывания транскрипционных факторов с ДНК и другим функциональным нарушениям. При понижении уровня восстановленного глутатиона нарушается проведение сигнала от ряда рецепторов факторов роста и связывание транскрипционных факторов с ДНК, подавляется рост и размножение клеток. АФК участвуют в начальных этапах клеточной сигнализации (редокс-сигнализация) в условиях стресса, гипоксии, воспаления и других патологических состояний [9, 15, 20]. Характер клеточного ответа при этом будет зависеть от продолжительности и интенсивности воздействия вышеперечисленных факторов. При умеренном воздействии формируется неспецифический ответ, повышающий адаптацию организма к новым условиям. Механизм протекторного действия заключен, по-видимому, в окислительно-восстановительных модификациях сульфгидрильных групп сенсорных белков, что приводит к активации тирозинкиназного пути клеточного ответа. При воздействии высокой интенсивности, например, при глубокой гипоксии наступает некроз тканей, в том числе и за счет прямого

повреждающего действия АФК, активирующих перекисное окисление липидов и других биологических молекул [12, 27, 28].

Одним из важнейших следствий инициации редокс-сигналикации и АФК-опосредованной передачи сигнала является активация ядерных факторов транскрипции, которые находятся в неактивном состоянии до тех пор, пока в их молекуле не произойдет отщепление ингибиторного домена. После этого, ядерные факторы транскрипции оказываются способными индуцировать многочисленные гены. Среди известных к настоящему времени белков, которые синтезируются в ответ на редокс-сигнал от адаптирующего фактора, наибольшее значение имеет, прежде всего, ряд неспецифических молекул, таких как ферменты антиоксидантной защиты, белки семейства HSP и другие белки срочного ответа, которые могут синтезироваться в ответ на гипоксию, стресс, ишемию, реперфузию и т.д. [5, 42].

В процессе адаптации клетки к гипоксии АФК способствуют активации митохондриального АТФ-чувствительного калиевого канала и системы выброса калия из митохондрий, осуществляемого, обычно,  $K^+/H^+$ -обменником, что свидетельствует об активации калиевого цикла в митохондриях [19, 48]. В то же время известно, что активация калиевого цикла способствует слабому разобщению митохондрий, которое ведет к снижению мембранного потенциала. А даже незначительное снижение мембранного потенциала ведет к существенному уменьшению продукции супероксид аниона [38].

Таким образом, АФК выполняют сигнальную роль в регуляции основных функций клетки, а также участвуют в ауторегуляции образования свободных радикалов кислорода в митохондриях в условиях гипоксии.

### **Роль активных форм кислорода в патологии клетки**

Митохондрии более всех других органелл подвержены атаке АФК и, как следствие, повреждению мембранных липидов, белков, ДНК и даже гибели. Причем для гибели митохондрий не требуется никаких дополнительных белков, кроме тех, которые присутствуют в них самих.

Для защиты от АФК митохондрии обладают мощной антиоксидантной системой, которая включает ферменты супероксиддисмутазу (нейтрализация супероксид-аниона в перекись водорода), пероксидазу и глутатионпероксидазу (деградация перекиси водорода), а также глутатион, восстановленную форму коэнзима Q, аскорбиновую кислоту и другие низкомолекулярные антиоксиданты. Когда митохондрии перестают справляться с проблемой детоксикации образуемых ими АФК, несмотря на перечисленные механизмы защиты, то в клетке развивается так называемый «окислительный стресс». В результате избыточного образования кислородных радикалов, последние начинают выполнять в основном деструктивные функции, нежели служат в качестве сигнальных молекул. Происходят специфические изменения клеточных компонентов: повреждаются мембранные структуры из-за перекисного окисления липидов (ПОЛ), происходит окисление белков по остаткам тирозина, цистеина и серина, повреждение ДНК, смещение редокс-потенциала клетки из-за окисления глутатиона и НАД(Ф)Н. Наблюдается разрушение митохондриальных структур от мембраны до митохондриальных ДНК (мтДНК) [13, 14, 43].

Окислительный стресс является причиной множества дегенеративных заболеваний, старения и гибели клетки. Активные формы кислорода, образующиеся в митохондриях, рассматриваются в качестве основного фактора развития внутриклеточного окислительного стресса под воздействием гипоксии, ишемии и реперфузии [7, 30]. Образование АФК с участием митохондрий играет важную роль в индукции апоптоза при патофизиологических процессах в нейронах, кардиомиоцитах, а также в процессе старения. Считается, что предрасположенность нервной ткани к окислительному стрессу связана с высоким уровнем окислительного метаболизма и повышенной генерацией кислородных радикалов, большим содержанием липидов и прооксидантов, относительно низкой активностью антиоксидантных систем и наличием нейронов с высоким содержанием NO-синтазы [29]. Повышение продукции АФК в митохондриях при недостатке антиоксидантов, например, при ишемии головного мозга, приводит к повреждению электрон-транспортной цепи митохондрий, к снижению синтеза АТФ и связанному с этим понижению активности АТФ-зависимых ферментов.

АФК оказывают повреждающее действие, прежде всего, на мембраны митохондрий. В частности, под действием АФК в белке внутренней мембраны митохондрий, который обеспечивает сопряженный перенос АТФ/АДФ, происходит окисление SH-группы Cys-56, что способствует образованию неспецифического митохондриального канала (mPTP), проницаемого для низкомолекулярных веществ [25, 39]. АФК значительно влияют на концентрацию ионов кальция в матриксе митохондрий и цитоплазме клеток, провоцируя закачку  $Ca^{2+}$  в цитоплазму из

внеклеточного пространства и внутриклеточных депо, а в матрикс - из цитоплазмы, путем активации кальциевых транспортеров [36].

Митохондриальная ДНК (мтДНК) является еще одной уязвимой мишенью для патогенного действия АФК. Высокая концентрация активных форм кислорода в митохондриях и слабая система репарации этих органелл увеличивают частоту мутаций мтДНК по сравнению с ядерной ДНК. Радикалы кислорода служат причиной специфических замен в молекуле ДНК. Так, гидроксил-радикал оказывает повреждающее действие на ДНК вследствие окисления оснований, их модификации, повреждения хромосом. Подобные мутации могут привести к патологии и гибели клетки или её злокачественному перерождению. Повреждение мтДНК особенно опасно в связи с постепенным накоплением мутаций, длительным эффектом АФК. В митохондриальном геноме закодирован ряд важнейших уникальных митохондриальных белков, и повреждение ответственных за них генов приводит к нарушениям в их экспрессии и последующем функционировании. Установлена четкая корреляция между возрастом и накоплением мутаций в мтДНК, падением эффективности дыхания и увеличением продукции АФК, что легло в основу митохондриальной теории старения [45].

Свободные радикалы кислорода и продукты ПОЛ, образование которых они индуцируют, играют одну из ведущих ролей в патогенезе отека-набухания головного мозга и метаболических нарушений в мозговой ткани в посттравматический и постишемический периоды [22, 23, 33].

В условиях развития окислительного стресса не очень токсичная молекула пероксида водорода в присутствии 2-валентного железа может генерировать гидроксильный радикал или превращаться в гипохлорит-анион ( $\text{OCl}^-$ ) ферментом миелопероксидазой. Как гипохлорит-анион, так и гидроксил-радикал являются сильными окислителями. Они способны модифицировать белки, нуклеиновые кислоты, индуцировать ПОЛ, которому наиболее сильно подвергаются полиненасыщенные жирные кислоты, входящие в состав липидов мембран. При перекисном окислении липидов кислородный радикал, чаще всего это бывает гидроксил-радикал, который хорошо проникает в мембраны, будучи незаряженным, отнимает атом водорода от молекулы жирной кислоты с образованием перекисного радикала жирной кислоты. Этот радикал запускает цепную реакцию, взаимодействуя с другой жирной кислотой, в ходе которой образуются перекись кислоты и новый радикал:

$\text{LH} + \text{HO}^\cdot \rightarrow \text{L}^\cdot + \text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{L}^\cdot + \text{O}_2 \rightarrow \text{LOO}^\cdot$ ;  $\text{LOO}^\cdot + \text{LH} \rightarrow \text{LOOH} + \text{L}^\cdot$ , и так далее. Такая цепная реакция затрагивает значительное количество клеточных липидов, в результате чего повреждаются мембраны. Кроме того, может происходить и амплификация окислительного повреждения за счет распада гидроперекисей на два новых радикала, каждый из которых запускает свою цепь [44].

В рамках общей концепции окислительного стресса большое значение имеет феномен АФК-индуцированного образования АФК [49]. Согласно этому феномену небольшие количества индуцирующих АФК приводят к падению трансмембранного потенциала и активной генерации вторичных АФК, что ведет к развитию «окислительного взрыва». Предположительно в ходе АФК-индуцированного образования АФК происходит окисление белков и регуляторных тиолов, которые изменяют редокс-статус клетки, иницируя неспецифическую проницаемость мембран. Изменение неспецифической проницаемости носит обратимый характер, но все же приводит к нарушению функционирования электрон-транспортной цепи, изменению свойств мембран и, в конечном счете, к «окислительному взрыву».

При повреждении МФК I дыхательной цепи происходит прямое окисление белков, разрушение железосерных кластеров, нитрозилирование и глутатионилирование, вследствие чего значительно снижается его активность. Такие изменения наблюдаются, например, при ишемической болезни сердца и ишемии-реперфузии. АФК разрушают белки, разделяя их на меньшие пептиды. Это происходит следующим образом. Гидроксильный радикал отнимает протон от  $-\text{CH}(\text{R})-$  группы белка, образуя воду. Образовавшийся алкил-радикал может связаться со вторым алкил-радикалом, либо прореагировать с кислородом, образовав алкил-пероксид радикал. Далее алкил-пероксид радикал, присоединяя протон, образует алкил-пероксид. Протон он получает реагируя либо с  $\text{Fe}^{2+}$ , либо с пероксильным радикалом ( $\text{HO}_2^\cdot$ ). Алкил-пероксид белка может реагировать с таким же пероксидом (дисмутация), высвобождая кислород и образуя алкокси-белок. Алкокси-белок может также образовываться путем восстановления алкил-пероксида либо  $\text{Fe}^{2+}$ , либо пероксильным радикалом. В итоге исходный белок разделяется на более мелкие пептиды, что приводит к его дисфункции.

Примером действия АФК в условиях их избыточного образования может служить реперфузия миокарда или сосудов мозга после периода ишемии (инфаркт миокарда или инсульт головного мозга), сопровождающаяся развитием повреждений, сопоставимых или даже превышающих по

степени с возникшими в результате самой ишемии. Механизм образования АФК при реперфузии, вероятно, обусловлен созданием условий, благоприятствующих образованию вторичных радикалов. Во время ишемии парциальное напряжение кислорода в кардиомиоцитах резко снижается, и это сопровождается переходом окисленных атомов железа  $\text{Fe}^{3+}$  в восстановленные  $\text{Fe}^{2+}$ , а также повышением активности ксантиноксидазы. Оба эти компонента при появлении в цитоплазме больших количеств кислорода в начале реперфузии резко активируют образование  $\text{OH}\cdot$ , и возникающее под действием этого радикала повреждение клеточных структур может приобретать необратимый характер с развитием апоптоза.

Самым распространенным патологическим состоянием, приводящим к значительной вспышке продукции АФК, является гипоксия и последующая реоксигенация. При продолжительной гипоксии существенно изменяется активность ряда клеточных ферментов, происходит истощение и повреждение антиоксидантных защитных систем, и быстрое восстановление компонентов дыхательной цепи за счет обращения АТФ-синтазной реакции, используемой для создания протонного градиента в условиях недостатка кислорода. В результате всех этих изменений при последующей реоксигенации утечка электронов с комплексов дыхательной цепи и генерация супероксид-радикала значительно увеличивается [41].

В условиях нормоксии повышенная генерация активных форм кислорода, приводящая к окислительному стрессу, наблюдается обычно только в очагах воспаления [10]. В данном случае процесс генерации АФК обусловлен функциональной активностью НАДФН-оксидазных систем макрофагов и является жестко регулируемым, оказывая деструктивное влияние только на те клетки, на которые направлена иммунная реакция.

#### **Антиоксидантная система клетки**

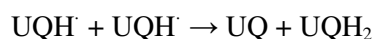
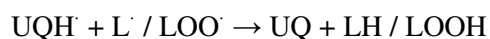
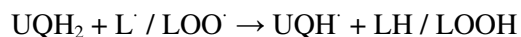
Поскольку образование АФК в клетках аэробных организмов происходит непрерывно, то в клетках существует защитная система против их пагубного влияния. Защита клетки от избытка кислородных радикалов и вызванных ими окислительных повреждений осуществляется функционированием антиоксидантной системы, которая включает антиоксидантные ферменты, низкомолекулярные соединения, образующие редокс-буфер, витамины, альбумины, свободные жирные кислоты и комплексоны ионов металлов.

К антиоксидантным ферментам, нейтрализующим АФК, относятся супероксиддисмутаза (СОД), каталаза и пероксидаза. СОД катализирует дисмутацию 2-х молекул супероксида с образованием перекиси водорода и  $\text{O}_2$ . Изоформы этого фермента присутствуют во всех клеточных компартментах, где возможно образование супероксида. Образующаяся при дисмутации супероксида перекись водорода нейтрализуется каталазой или глутатион- и тиоредоксин-пероксидазами в пероксисомах.

Внутриклеточный редокс-статус обеспечивается системой тиолов, в первую очередь глутатиона (GSH) и тиоредоксина (TRX), которые создают буферную систему для поддержания более восстановленных по сравнению с внеклеточной средой условий. Глутатион является важнейшим антиоксидантом в клетке, участвует в поддержании редокс-статуса за счет нейтрализации перекиси водорода:  $\text{H}_2\text{O}_2 + 2\text{GSH} \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{GSSG}$ . Регенерация восстановленного глутатиона (GSH) из глутатион-дисульфида (GSSG) происходит с помощью глутатион-редуктазы:  $\text{GSSG} + \text{НАДФН} + \text{H}^+ \rightarrow 2\text{GSH} + \text{НАДФ}^+$ . В условиях окислительного стресса из-за быстрого окисления глутатиона соотношение GSH/GSSG падает, но может быстро восстанавливаться до исходного уровня. В случае истощения GSH в какой-либо ткани, его обеспечение может происходить за счет выброса в кровь из депо (печень) [47]. Тиоредоксин действует как восстановитель дисульфидных связей в белках и донор электронов для TRX-пероксидазы, при этом не оказывает влияния на продукцию АФК или количество восстановленного глутатиона. Восстанавливается тиоредоксин с помощью тиоредоксин-редуктазы и НАДФН [40].

Свободнорадикальные процессы образования гипохлорит-аниона и гидроксил-радикала локализованы в цитоплазме и контролируются цитоплазматическими ферментами или природными водорастворимыми антиоксидантами. Например, таурин способен связывать гипохлорит-анион в форме хлораминового комплекса, дипептид карнозин и его производные нейтрализуют гидроксил-радикал. Большое значение для предотвращения ПОЛ, инициируемое в гидрофобном пространстве клеточных мембран, и уничтожения радикалов жирных кислот имеет локализованный в мембранах  $\alpha$ -токоферол (витамин Е). Его высокая концентрация в биологических мембранах препятствует их повреждению свободными радикалами. Токоферол обрывает цепные реакции образования липидных пероксидов, превращаясь в радикал, который регенерирует как с помощью активных водорастворимых восстановителей типа аскорбата и глутатиона, так и с помощью гидрофобного убихинола.

Активное участие в предотвращении окисления мембранных белков и липидов клетки принимает убихинол ( $UQH_2$ ), являющийся также как и убихинон ( $UQ$ ), одной из форм коэнзима  $Q_{10}$ . С точки зрения антиоксидантной защиты убихинол является самой эффективной формой коэнзима  $Q_{10}$ . Для нейтрализации свободных радикалов убихинол отдает электрон, в отличие от убихинона, который, наоборот, принимает его. Убихинол проявляет ярко выраженные свойства антиоксиданта, предотвращая перекисное окисление мембранных липидов. Он достаточно эффективно обрывает цепной процесс образования перекисных радикалов, превращаясь в убисемихинон ( $UQH^\cdot$ ), который затем может реагировать с новыми липидными радикалами, а также диспропорционировать с образованием  $UQ$  и  $UQH_2$ :



Замечательное свойство убисемихинона состоит в том, что он легко включается в Q-цикл, при этом быстро восстанавливаясь в убихинол в ходе постоянно идущего естественного процесса транспорта электронов в дыхательной цепи. В любом случае, образующиеся формы  $CoQ_{10}$  способны включаться в Q-цикл, и тем самым антиоксидант убихинол постоянно регенерируется [37, 46].

Кроме явного проявления антиоксидантных свойств путем непосредственного взаимодействия с АФК, убихинол восстанавливает другой важнейший жирорастворимый антиоксидант – витамин Е. Убихинол взаимодействует с  $\alpha$ -токофероксил-радикалом с образованием убисемихинон-радикала, который регенерируется за счет взаимодействия с другими радикалами или включения в Q-цикл дыхательной цепи митохондрий.

## Заключение

В сложной системе регуляции многообразных функций клетки в физиологических условиях и в условиях воздействия на клетку патогенных факторов значительная роль принадлежит активным формам кислорода. Основным местом образования АФК в клетке являются митохондрии. Скорость образования АФК и активность индуцируемых ими реакций СРО зависят от силы действия на клетку патогенного фактора и определяют ответную реакцию клетки на это воздействие. АФК вместе с антиоксидантной системой клетки образуют единую равновесную регуляторную систему, призванную модулировать основные функции клетки. Равновесие этой системы нарушается при окислительном стрессе, когда деструктивная роль АФК преобладает над их сигнальной функцией. Например, при гипоксии и ишемии в зависимости от тяжести поражения АФК активируют реакции адаптации к воздействию гипоксического фактора либо запускают цепные реакции перекисидации и инициируют апоптоз клетки. Эти процессы, как и судьба самой клетки, напрямую зависят от функциональной активности митохондрий, образуемых в них АФК, которые выступают в качестве сигнальных молекул, индуцирующих синтез белковых регуляторных факторов.

АФК тесно функционально взаимосвязаны с другими регуляторными факторами клетки в различных сигнальных путях регуляции ключевых функций и участвуют в реализации компенсаторно-адаптационных реакций клетки на экстремальные воздействия. Знание патофизиологических и патобиохимических процессов, индуцируемых АФК непосредственно в клетке и её органеллах, позволяет проводить патогенетическую коррекцию метаболических и функциональных изменений на уровне клеточных структур, предупреждая развитие органических и системных нарушений и, как следствие, развитие многих заболеваний. Не случайно антиоксидантная фармакотерапия все чаще используется в клинической медицинской практике [26].

Объекты образования АФК в клетке и реакции СРО можно использовать в качестве специфических мишеней для фармакологического воздействия. Такой подход открывает новые возможности эффективной фармакотерапии с использованием лекарственных средств направленного регулирования процессов СРО. Это в свою очередь повышает возможности фармакологической адаптации организма, в частности, к состояниям гипоксии и ишемии [2, 17, 21]. Таргетная фармакологическая регуляция СРО может быть использована в терапии широкого круга заболеваний, связанных с деструктивным действием свободных радикалов и других АФК.

## Литература

1. Гривенникова В. Г., Виноградов А.Д. Генерация активных форм кислорода митохондриями // Успехи биологической химии. – 2013. – Т.53. – С. 245-296.
2. Левченкова О.С., Новиков В.Е., Парфенов Э.А. Антигипоксическая активность новых производных кумарина // Вятский медицинский вестник. – 2004. – №2-4. – С. 40-43.
3. Левченкова О.С., Новиков В.Е., Пожилова Е.В. Фармакодинамика и клиническое применение антигипоксантов // Обзоры по клин. фармакологии и лек. терапии. – 2012. – Т.10, №3. – С. 3-12.
4. Левченкова О.С., Новиков В.Е., Пожилова Е.В. Митохондриальная пора как мишень фармакологического воздействия // Вестник СГМА. – 2014. – Т.13, №4. – С. 24-33.
5. Лукьянова Л.Д. Современные проблемы адаптации к гипоксии. Сигнальные механизмы и их роль в системной регуляции // Пат. физиол. и эксперим. терапия. – 2011. – №1. – С. 3-19.
6. Маркова Е.О., Новиков В.Е., Парфенов Э.А., Пожилова Е.В. Комплексное соединение аскорбиновой кислоты с антигипоксантами и антиоксидантными свойствами // Вестник СГМА. – 2013. – Т.12, №1. – С. 27-32.
7. Миронова Г.Д. Использование модуляторов ионных каналов как возможный путь лечения сердечно-сосудистых заболеваний, окислительного стресса и нейродегенеративных нарушений // Патогенез. – 2011. – Т.9, №3. – С. 47.
8. Новиков В.Е. Возможности фармакологической нейропротекции при черепно-мозговой травме // Психофармакология и биол. наркология. – 2007. – Т.7, №2. – С. 1500-1509.
9. Новиков В.Е., Илюхин С.А. Влияние гипоксена на эффективность кислоты ацетилсалициловой при остром воспалении // Эксперим. и клиническая фармакология. – 2013. – Т.76, №4. – С. 32-35.
10. Новиков В.Е., Илюхин С.А., Пожилова Е.В. Влияние метапрота и гипоксена на развитие воспалительной реакции в эксперименте // Обзоры по клин. фармакологии и лек. терапии. – 2005. – Т.4, №1. – С. 2-20.
11. Новиков В.Е., Климкина Е.И. Влияние гипоксена на морфо-функциональное состояние печени при экзогенной интоксикации // Эксперим. и клиническая фармакология. – 2009. – Т.72, №5. – С. 43-45.
12. Новиков В.Е., Климкина Е.И. Фармакология гепатопротекторов // Обзоры по клин. фармакологии и лек. терапии. – 2012. – Т.10, №4. – С. 63-66.
13. Новиков В.Е., Ковалёва Л.А. Влияние веществ с ноотропной активностью на окислительное фосфорилирование в митохондриях мозга при острой черепно-мозговой травме // Эксперим. и клиническая фармакология. – 1997. – Т.60, №1. – С. 59-61.
14. Новиков В.Е., Ковалёва Л.А. Влияние ноотропов на функцию митохондрий мозга в динамике черепно-мозговой травмы в возрастном аспекте // Эксперим. и клиническая фармакология. – 1998. – Т.61, №2. – С. 65-68.
15. Новиков В.Е., Крюкова Н.О., Новиков А.С. Гастропротекторные свойства мексидола и гипоксена // Эксперим. и клиническая фармакология. – 2010. – Т.73, №5. – С. 15-18.
16. Новиков В.Е., Левченкова О.С. Гипоксией индуцированный фактор как мишень фармакологического воздействия // Обзоры по клин. фармакологии и лек. терапии. – 2013. – Т.11, №2. – С. 8-16.
17. Новиков В.Е., Левченкова О.С. Новые направления поиска лекарственных средств с антигипоксической активностью и мишени для их действия // Эксперим. и клиническая фармакология. – 2013. – Т.76, №5. – С. 37-47.
18. Новиков В.Е., Левченкова О.С. Митохондриальные мишени для фармакологической регуляции адаптации клетки к воздействию гипоксии // Обзоры по клин. фармакологии и лек. терапии. – 2014. – Т.12, №2. – С. 28-35.
19. Новиков В.Е., Левченкова О.С., Пожилова Е.В. Роль митохондриального АТФ-зависимого калиевого канала и его модуляторов в адаптации клетки к гипоксии // Вестник СГМА. – 2014. – Т.13, №2. – С. 48-54.
20. Новиков В.Е., Лосенкова С.О. Фармакология производных 3-оксипиридина // Обзоры по клин. фармакологии и лек. терапии. – 2004. – Т.3, №1. – С. 2-14.
21. Новиков В.Е., Маркова Е.О., Дьяков М.Ю., Парфенов Э.А. Антигипоксическая активность комплексных соединений на основе аскорбиновой кислоты // Обзоры по клин. фармакологии и лек. терапии. – 2011. – Т.9, №2. – С. 35-41.
22. Новиков В.Е., Понамарева Н.С., Шабанов П.Д. Аминотиоловые антигипоксанты при травматическом отеке головного мозга. – Смоленск – СПб.: Элби-СПб, 2008. – 176 с.
23. Новиков В.Е., Шаров А.Н. Влияние ГАМК-ергических средств на окислительное фосфорилирование в митохондриях мозга при его травматическом отеке // Эксперим. и клиническая фармакология. – 1991. – Т.54, №6. – С. 44-46.
24. Новиков В.Е., Яснецов В.В., Евсеев А.В., Меркулова Л.И. Фармакологическая коррекция активности процессов перекисного окисления липидов в динамике черепно-мозговой травмы // Эксперим. и клиническая фармакология. – 1995. – Т.58, №1. – С. 46-48.

25. Пожилова Е.В., Новиков В.Е., Левченкова О.С. Регуляторная роль митохондриальной поры и возможности её фармакологической модуляции // *Обзоры по клин. фармакологии и лек. терапии.* – 2014. – Т.12, №3. – С. 13-19.
26. Пожилова Е.В., Новиков В.Е., Новикова А.В. Фармакодинамика и клиническое применение препаратов на основе гидроксипиридина // *Вестник СГМА.* – 2013. – Т.12, №3. – С. 56-66.
27. Сазонтова Т.Г., Архипенко Ю.В. Роль свободнорадикальных процессов в адаптации организма к изменению уровня кислорода // *Проблемы гипоксии* / Ред. Л. Лукьянова, И. Ушаков. – М.: Изд-во Истоки, 2004. – С. 112-138.
28. Сазонтова Т.Г., Архипенко Ю.В. Роль свободнорадикальных процессов и редокс-сигнализации в адаптации организма к изменению уровня кислорода // *Росс. физиологический журнал им. И.И. Сеченова.* – 2005. – Т.91, №6. – С. 636-655.
29. Силачев Д.Н. Изучение новых нейропротекторов на модели фокальной ишемии головного мозга: Автореф. дис... канд. биол. наук. – М., 2009. – 22 с.
30. Судаков Н.П., Никифоров С.Б., Константинов Ю.М. и др. Механизмы участия митохондрий в развитии патологических процессов, сопровождающихся ишемией и реперфузией // *Бюлл. ВШЦ СО РАМН.* – 2006. – Т.51, №5. – С. 332-336.
31. Тургенева Л.Б., Новиков В.Е., Пожилова Е.В. Лечение воспалительных заболеваний пародонта мексидолом // *Патогенез.* – 2011. – Т.9, №3. – С. 67.
32. Шабанов П.Д., Зарубина И.В., Новиков В.Е., Цыган В.Н. Метаболические корректоры гипоксии. – СПб.: Информ-Навигатор, 2010. – 916 с.
33. Яснецов В.В., Новиков В.Е. Фармакотерапия отека головного мозга. – М.: ВИНТИ, 1994. – 176 с.
34. Chen Q., Vazquez E.J., Moghaddas S. et al. Production of reactive oxygen species by mitochondria // *J. Biol. Chem.* – 2003. – V.278, N38. – P. 36027-36031.
35. Fluey C., Mignotte B., Vayssiere J.L. Mitochondrial reactive oxygen species in cell death signaling // *Biochimie.* – 2002. – V.84, N2-3. – P. 131-141.
36. Ghosh A., Greenberg M.E. // Calcium signaling in neurons, molecular mechanisms and cellular consequences // *Science.* – 1995. – V.268(5208). – P. 239-247.
37. Kelso G.F., Porteous C.M., Coulter C.V. et al. Selective targeting of a redox-active ubiquinone to mitochondria within cells: antioxidant and antiapoptotic properties // *J. Biol. Chem.* – 2001. – V.276, N7. – P. 4588-4596.
38. Korshunov S., Skulachev V., Starkov A. High protonic potential actuates a mechanism of production of reactive oxygen species in mitochondria // *FEBS Letters.* – 1997. – V.416. – P. 15-18.
39. Kuo M.T. Redox regulation of multidrug resistance in cancer chemotherapy: molecular mechanisms and therapeutic opportunities // *Antioxid. Redox Signal.* – 2009. – V.11, N1. – P. 99-133.
40. Li C., Jakson R.M. // Reactive species mechanisms of cellular hypoxia-reoxygenation injury // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* – 2002. – V.282. – P. 227-241.
41. Lukyanova L.D., Sukoyan G.V., Kirova Y.I. Role of proinflammatory factors, nitric oxide, and some parameters of lipid metabolism in the development of immediate adaptation to hypoxia and HIF-1 $\alpha$  accumulation // *Bull. Exp. Biol. Med.* – 2013. – V.154, N5. – P. 597-601.
42. Maulic N., Goswami S., Galang N., Das D. Differential regulation of Bcl-2, AP-1 and NF-kappaB on cardiomyocyte apoptosis during myocardial ischemic stress adaptation // *FEBS Lett.* – 1999. – V.443. – P. 331-336.
43. Murphy M.P. Investigating mitochondrial radical production using targeted probes // *Biochem. Soc. Trans.* – 2004. – V.32, N6. – P. 1011-1014.
44. Ross M.F., Ross T.D., Blaikie F.H. et al. Accumulation of lipophilic dicationic probes by mitochondria and cells // *Biochem. J.* – 2006. – Vol. 400. – P. 199-208.
45. Skulachev V.P. Mitochondria targeted antioxidants as promising drugs for treatment of age-related brain diseases // *J. of Alzheimers Dis.* – 2012. – V.28, N2. – P. 283-289.
46. Smith R.A., Kelso G.F., James A.M., Murphy M.P. Targeting coenzyme Q derivatives to mitochondria // *Methods Enzymol.* – 2004. – V.382. – P. 45-67.
47. Urso M.L., Clarkson P.M. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation // *Toxicology.* – 2003. – V.189. – P. 41-54.
48. Zhang D., Chen Y., Campbell W. et al. Characteristics and superoxide-induced activation of reconstituted myocardial mitochondrial ATP-sensitive potassium channel // *Circ. Res.* – 2001. – V.89. – P. 1177-1173.
49. Zorov D.B., Filburn C.R., Klotz L.O. et al. Reactive oxygen species (ROS)-induced ROS release, a new phenomenon accompanying induction of the mitochondrial permeability transition in cardiac myocytes // *J. Exp. Med.* – 2000. – V.192. – P. 1001-1014.

**Информация об авторах:**

*Пожилова Елена Васильевна* – ассистент кафедры ортопедической стоматологии с курсом ортодонтии ГБОУ ВПО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: nau@sgma.info

*Новиков Василий Егорович* – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии ГБОУ ВПО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: nau@sgma.info

*Левченкова Ольга Сергеевна* – кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры фармакологии ГБОУ ВПО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: os.levchenkova@gmail.com