

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА И ВОЗМОЖНОСТИ ЕГО ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ

Профессор А.Т. КИРИЧЕК, Е.О. ЗУБОВА

Харьковский государственный медицинский университет

Представлены современные данные о состоянии внутриклеточных сигнальных систем организма в условиях окислительного стресса. Названы лекарственные средства, регулирующие прооксидантно-антиоксидантное равновесие и связанные с ним трансмембранные механизмы нормализации клеточного метаболизма.

Неотъемлемой частью жизнедеятельности подавляющего большинства живых организмов является кислород, обеспечивающий энергообразующие механизмы аэробных реакций и ферментативно-метаболическую активацию всех функций. В динамике этих реакций кислород превращается в свои активные формы в виде супероксида, перекиси водорода и гидроксил-радикала, получивших название свободных радикалов, необходимых для нормального течения многих жизненно важных процессов. К числу последних относят обновление состава липидов биомембран, окислительное фосфорилирование в митохондриях, проведение нервного импульса, перенос электронов, поддержание активности липидозависимых мембраносвязанных ферментов, участие в механизмах апоптоза и регуляции функций посредством простагландинов и простаглицлинов [1]. Современные представления о полезных эффектах свободных радикалов дополняются данными о терапевтическом применении газофазного экзогенного супероксида и низкодозированной перекиси водорода для лечения больных бронхиальной астмой, с болевым синдромом, болезнью Паркинсона [2].

Избыточное образование продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) оказывает повреждающее действие на уровне клеток. Перекисные радикалы взаимодействуют с молекулами жирных кислот, образуя высокотоксичные гидроперекиси и новый свободный радикал. Такой лавинообразный процесс формирует все новые и новые цепи окисления с участием первичных (диеновые конъюгаты), промежуточных (малоновый диальдегид и др.) и конечных (основания Шиффа и др.) продуктов ПОЛ, непрерывное накопление которых дестабилизирует мембраны и способствует деструкции клеток. Это может привести к повреждению мембран эритроцитов, лизосом, эндотелия и даже митохондриальных и ядерных ДНК, что не исключает злокачественное перерождение клеток и даже генетический мутагенез [3]. Такая практически цепная реакция может быть остановлена лишь взаимодействием с антиоксидантами.

Адаптивным приспособлением для защиты от токсического деструктивного действия свободного кислорода и его активных форм являются наследуемые генетически детерминированные антиоксидательные системы, которыми обладают все живые

организмы. У человека антиоксидантная система (АОС) представлена ферментами (супероксиддисмутазой, глутатион-пероксидазой, каталазой и др.), фитонутриентами (витаминами Е, А, С, полифенолами, селеном, микроэлементами и др.), секвестрантами металлов (трансферритином, гемопексином и др.), а также такими антиоксидантами, как билирубин, таурин, убихинон [1]. Механизм антиоксидантного действия заключается в последовательном ингибировании свободных радикалов на всех этапах их образования. При этом происходит субстратная активация указанных ферментов, усиливается активность мембранных и внутриклеточных антиоксидантов в наиболее уязвимых органах, активируются системы нейрогуморальной регуляции (ГАМК, опиоидные пептиды), медиаторы которых обладают собственной антиоксидантной активностью.

В нормальных физиологических условиях жизнедеятельности организма скорость ПОЛ и активность АОС уравновешены. Это равновесие подвижно, несколько смещено вправо — в направлении АОС, а под влиянием патологических факторов, приводящих к закономерному усилению процессов окисления, создаются предпосылки для смещения равновесия влево — в сторону усиления ПОЛ. Буферная емкость АОС достаточно велика, поэтому смещение равновесия влево выявляется не сразу, а лишь по мере истощения антиоксидантных резервов [4]. Сдвиг равновесия в системе биологического окисления в сторону активации свободнорадикального липидоперекисления с одновременным ослаблением резервов антиоксидантной системы защиты организма получил название окислительного, или оксидативного, стресса [5].

Дальнейшее развитие этого процесса связано с активированием ряда ферментных систем (циклооксигеназы, липооксигеназы, оксидазы, цитохромы), высвобождением гембелков (миоглобин, гемоглобин), повреждением митохондрий, повышением внутриклеточного уровня ионизированного кальция, разрушением мембранных структур клеток и внеклеточного матрикса, что вызывает тяжелейшую соматическую патологию как стрессового, так и нестрессового генеза [6]. Это может быть следствием повреждающего воздействия таких факторов, как ионизирующая радиация, температурные влияния тепла и холода, солнечное облучение, химические

отравления, воспалительные процессы, эндотоксикозы и целый ряд заболеваний и состояний, патогенетической основой которых является гипоксия: геморрагический шок, сахарный диабет, ревматоидные артриты, язвенный колит, атеросклероз, синдром приобретенного иммунодефицита, ИБС, гипертоническая болезнь и др. [7–10].

Нарушение баланса прооксидантной и антиоксидантной реактивности организма занимает важное место и в структуре стресс-стимулирующей системы, с функционированием которой сопряжены неблагоприятные последствия различных видов стресса [6; 11; 12].

При действии различных повреждающих факторов смещение указанного равновесия является первичным посредником-медиатором между внешним воздействием и активацией реализующих систем организма, в том числе и стресс-стимулирующих [13]. Это подтверждается синхронной динамикой процессов ПОЛ и других показателей реакции напряжения, а также ослаблением этих процессов, как и типичных гиперкатехолемии и гиперкортикостероидемии, после введения известных антиоксидантов [14]. Возникающая при этом распространенная мембранопатия с универсальной биофизической, молекулярной и энергетической патологией приводит к нарушению трансмембранной передачи и ее способности видоизменять процессы клеточного метаболизма, тесно связанные с молекулярными механизмами проведения внутриклеточного сигнала [15].

Из обстоятельных обзоров по этому вопросу [16; 17] известно, что регуляция функции клетки определяется несколькими сигнальными системами: аденилатциклазной (АЦ), мобилизующей- Ca^{2+} полифосфоинозитазной (Са-ПФИ) и гуанилатциклазной (ГЦ), из которых наиболее изученной является первая. АЦ-комплекс, локализованный в клеточной мембране, состоит из мембранных рецепторов, интрамембранных G-белков и АЦ-каталитической субъединицы, ускоряющей синтез цАМФ из АТФ. К рецепторам, активирующим АЦ, относятся β_1 - и β_2 -адренорецепторы, D_1 -дофаминовые, H_2 -гистаминовые и ряд рецепторов пептидных гормонов (АКТГ, вазопрессина). Ингибирование этой системы происходит через M_2 -холинергические, α_1 -адренергические, D_2 -дофаминовые, 5-HT_{1A} -серотониновые и ангиотензиновые рецепторы. Среди вторичных посредников АЦ-каскада важное место занимают активные метаболиты фосфолипидного обмена инозитол-трифосфат и диацилглицерин, а также ионы цитоплазматического кальция, составляющие основу Са-ПФИ-каскада. На заключительном этапе формирования клеточного ответа происходит фосфорилирование эффекторных белков протеинкиназой-С и Са-кальмодулинзависимой протеинкиназой.

В ГЦ-системе основную ферментативную функцию осуществляет гуанилатциклаза, катализирующая биосинтез цГМФ из гуанилаттрифосфата. Она локализована в цитоплазме и только в отдельных тканях имеет связь с клеточной мембраной. Вторичный мессенджер ГЦ-системы активирует протеинкиназу-С, осуществляющую дальнейшую передачу

сигнала. Гидролиз цГМФ связан с активностью ФДЭ циклических нуклеотидов.

Все клеточные сигнальные системы функционально тесно связаны между собой, а между их циклическими нуклеотидами (цАМФ и цГМФ) существуют реципрокные отношения, которые распространяются и на их биологические эффекты. Поэтому нарушение их функций при различных патологических состояниях приводит к нарушению функции клетки, ткани и органа в целом. Функция сигнальных систем клетки изменяется, прежде всего, в связи с нарушением транспортных свойств клеточных мембран, что вызывает нарушение энергетического обмена и в первую очередь — дефицит макроэргов из-за ослабления процессов окислительного фосфорилирования. Это приводит к снижению уровня адениловых нуклеотидов, среди которых уменьшение количества АТФ особенно неблагоприятно, поскольку с его участием через цАМФ происходит фосфорилирование белков, преобразующих регуляторный сигнал и формирующих ответ клетки на любое воздействие.

В условиях оксидативного стресса этот процесс блокируется избытком продуктов ПОЛ, в том числе свободных радикалов, нарушением регуляторных сигналов в связи с деструкцией мембран, а снижение количества адениловых нуклеотидов завершает этот цикл, делая его замкнутым. Эти нарушения усугубляются мобилизацией ионов кальция из внутриклеточных депо. «Кальциевая перегрузка» тоже связана с повышением проницаемости мембран для кальция, с активацией при этом медленных кальциевых каналов и с поступлением в клетку ионов кальция по градиенту концентрации, а в случае тотальной деструкции мембран — с непрерывностью активного транспорта Ca^{2+} из крови в матрикс митохондрий. Конкурентно вытесняя ионы магния, которые являются активаторами аденилатциклазы, кальций снижает ее активность. Кроме того, он активирует Ca^{2+} -зависимую ФДЭ, усиливающую гидролиз цАМФ.

ГЦ-система в условиях тканевой гипоксии выступает своеобразным регулятором функционирования АЦ- и Са-ПФИ-каскадов и даже способна оказывать на определенном этапе протекторное действие, защищая сосуды комплексом с оксидом азота.

Анализ представленного материала свидетельствует об объективной связи процессов пероксидации, в том числе и внутриклеточных, с разными проявлениями стресса. Она осуществляется прежде всего через β -адренорецепторы симпатического отдела вегетативной нервной системы, тонус которой в условиях стресса, как известно, повышается. Внутриклеточный метаболизм в связи со стимуляцией β -адренорецепторов проявляется повышением активности АЦ и увеличением синтеза цАМФ, который активирует протеинкиназу, участвующую в фосфорилировании белков и усиливающую процессы энергообразования и энергообеспечения синтеза белков и ферментов в клетке как на уровне транскрипции, так и на этапе трансляции. На ранней стадии воздействия любого стрессового фактора АЦ-система и ее компоненты таким путем обеспе-

чивают адаптацию организма, а при чрезмерной интенсивности или продолжительности стресса, когда ее резервные возможности истощаются на фоне избыточного образования перекисей и свободных радикалов, возникает стадия тревоги со всеми ее типичными проявлениями, в том числе и с признаками окислительного стресса. На этом основании можно считать, что метаболиты и компоненты АЦ-системы, в частности ее вторичный мессенджер цАМФ, могут рассматриваться как эндогенные протекторы, обуславливающие устойчивость организма к данному экстремальному воздействию [18].

В связи с изложенным могут быть расширены представления о механизмах антиоксидантного действия, включая не только возможности ослаблять интенсивность процессов ПОЛ и повышать активность антиоксидантной системы, что достигается традиционными мембраностабилизирующими антиоксидантами (токоферол, аскорбиновая кислота и др.), но и воздействие на внутриклеточные компоненты сигнальных систем, способствующие повышению уровня какого-то из их посредников в клетке. Этот подход позволяет расширить и пути поиска новых антиоксидантов и антистрессовых средств среди препаратов, реализующих свой фармакологический эффект через ключевые ферменты внутриклеточного метаболического энергообеспечения.

В современной фармакотерапии находят широкое применение препараты, эффекты которых сочетаются с антиокислительной защитой организма за счет повышения уровня внутриклеточных метаболитов. К их числу в первую очередь относится АТФ, являющийся энергетическим субстратом АЦ-системы [19], его фрагмент фосфаден (АМФ) и его предшественник рибоксин (нуклеозид пурина) [20]. Известно большое количество препаратов, ингибирующих ФДЭ, тем самым замедляющих метаболизм цАМФ и увеличивающих ее количество в клетке (метилксантины, папаверин, дибазол, но-шпа, карбокромел, интенсаин). Мембраностабилизирующие свойства ряда противоэпилептических средств (дифенина, триметина, карбамазепина, этосуксемида), угнетая Na^+ -каналы и активность фосфолипазы A_2 , предупреждают разрушение фосфолипидов клеточных мембран; снижение тонуса симпатической нервной системы (анаприлин, окспреналол, празозин, резерпин) выравнивает нарушенное стрессом равновесие эндогенных окислительных реакций, изменяя активность АЦ-системы внутри клетки; специфическая блокада Ca^{2+} -каналов (верапамил, дилтиазем и др.) предотвращает «кальциевую перегрузку» клетки и активацию Са-ПФИ-каскада [21]. В механизме антиаритмического действия β -адреноблокаторов определенную роль играет подавление ими активации АЦ клеточных мембран и уменьшение образования цАМФ, способствующего передаче эффектов катехоламинов. Их отрицательное инотропное действие связано с ослаблением симпатических влияний на внутриклеточные сигнальные системы и изменением их активности под влиянием сдвигов в трансмембранном переносе ионов натрия, калия и кальция [22].

Классические ингибиторы ЦОГ — нестероидные противовоспалительные средства — тормозят продукцию и метаболизм арахидоновой кислоты и образование из нее агрессивных провоспалительных веществ в связи с активацией фосфолипазы- A_2 и диацилглицеринлипазы [23].

Одним из препаратов, оказывающих многообразное действие на передачу внутриклеточного сигнала по АЦ-пути, является аденозин, который через соответствующие рецепторы (A_1) и непосредственно воздействуя на каталитическую часть АЦ-комплекса, способен повышать в клетке уровень цАМФ, снижать активность различных форм ФДЭ, блокировать медленные Ca^{2+} -каналы, активировать K^+ -каналы, увеличивать NO -зависимую продукцию цГМФ [24]. На этом основании аденозин и его производные могут считаться перспективными средствами повышения устойчивости организма к повреждающим факторам [25].

В ряде исследований [18; 26; 27] указывается на способность препаратов из производных ксантина (кофеин-бензоат натрия, теofilлин, теобромин, эуфиллин, пентоксифиллин, ксантинола никотинат) нормализовать состояние окислительного гомеостаза организма. Один из наиболее активных ксантинов пентоксифиллин предотвращает истощение резервов антиоксидантной системы защиты организма при гипоксии, сохраняя активность ее ключевых ферментов, повышая уровень цАМФ в плазме крови путем ингибирования ФДЭ цАМФ. Мембраностабилизирующие, цАМФ-протекторные, антикальциевые, антиангинальные и антиагрегантные свойства ксантинов, в частности пентоксифиллина, наряду с другими свойственными фармакодинамическими эффектами, способны предупреждать формирование необратимых патологических изменений в разных органах и тканях [28].

Ноотропы, в частности пирацетам, стимулируют окислительно-восстановительные процессы и увеличивают энергетический потенциал организма за счет ускорения синтеза и оборота АТФ, даже в условиях дефицита кислорода, повышения активности АЦ и ингибирования нуклеотидфосфатазы [29]. Дозозависимо модулируют уровень внутриклеточного цАМФ энкефалины, что является ключевым звеном в реализации их многочисленных фармакологических эффектов [30].

Внутриклеточные биохимические механизмы фармакологического эффекта описаны у сердечных гликозидов, противоаритмических средств, донаторов оксида азота, антиангинальных препаратов, антигипертензивных, гиполипидемических и многих других средств, установлена их связь с обменом электролитов, системой никотинамидных коферментов и адениловых нуклеотидов [17]. Ряд фармакологически активных веществ, таких как ингибиторы АПФ и блокаторы АТ-рецепторов, нейрорептики, циметидин, инсулин, антагонисты опиатных рецепторов, трициклические антидепрессанты, буспирон и др., также отнесены [16] к биорегуляторным стереотипам воздействия на основные внутриклеточные сигнальные системы.

Наряду с функциональными компонентами АЦ-сигнальной системы объектом фармакологического воздействия могут быть и цГМФ (нитроглицерин, нитропруссид натрия), и ОН-радикалы (ДМСО) [31; 32], а влияние на окислительный метаболизм клеток положен в основу современного поиска нового класса энергообеспечивающих антиоксидантов [33].

Разработка высокоэффективных антигипоксантов разностороннего механизма действия, способных устранять нарушения и восстанавливать реципрокность одновременно в нескольких сигнальных внут-

риклеточных системах, переключается с актуальной проблемой современной медицины и фармакологии — получением, изучением и внедрением новых антиоксидантов, антигипоксантов и стресспротекторов, для которых восстановление прооксидантно-антиоксидантного равновесия является одним из универсальных механизмов фармакологического эффекта, а воздействие на наиболее общие звенья тканевого внутриклеточного проявления любого патологического синдрома создает реальные возможности для их лечебного и профилактического применения.

Литература

1. Ланкин В.З., Тихазе А.К., Беленков Ю.Н. Свободнорадикальные процессы в норме и при заболеваниях сердечно-сосудистой системы.— М., 2000.— 260 с.
2. Гольдштейн Н.И. Активные формы кислорода как жизненно необходимые компоненты воздушной среды // Биохимия.— 2002.— Т. 67, вып. 2.— С. 194–204.
3. Карелин А.А. Роль сигнальной АТФ как вторичного мессенджера в трансмембранной передаче полипептидных сигналов к росту и клеточной дифференцировке // Вопр. мед. хим.— 1991.— Т. 37, № 6.— С. 44–47.
4. Луцак В.И. Окислительный стресс и механизмы защиты от него // Биохимия.— 2001.— Т. 66, вып. 5.— С. 592–609.
5. Особенности перекисного стресса у детей, проживающих на территории длительного низкоинтенсивного радиационного воздействия / Л.А. Дурнов, В.М. Байкова, В.Г. Поляков и др. // Вопр. онкол.— 2000.— № 4.— С. 395–400.
6. Балаболкин М.И., Клебанов Е.М. Роль окислительного стресса в патогенезе сосудистых осложнений диабета // Пробл. эндокринол.— 2000.— № 6.— С. 29–34.
7. Кизиченко Н.В., Архипенко Ю.В. Защитный эффект адаптации к стрессу от повреждений, вызванных геморрагическим шоком: роль антиоксидантной системы // Бюл. эксп. биол. и мед.— 1998.— № 9.— С. 270–273.
8. Гемолитико-уремический синдром как клиническое проявление оксидантного стресса / Т.С. Балашова, Н.И. Багирова, Д.В. Зверева и др. // Вестн. Рос. АМН.— 1996.— № 9.— С. 20–23.
9. Окислительный стресс: клинико-метаболические показатели и полиморфный маркер гена каталазы при развитии ретинопатии у больных сахарным диабетом II типа / О.С. Булатова, Я.Ю. Кондратьев, Т.М. Миленская и др. // Пробл. эндокринол.— 1999.— № 4.— С. 3–7.
10. Эмбирбеков Э.З., Львова С.П., Гасангаджиева А.Г. Влияние многократного холодового стресса на интенсивность перекисного окисления липидов и антиоксидантную систему тканей // Бюл. эксп. биол. и мед.— 1998.— № 4.— С. 385–387.
11. Эмоциональная реактивность гипоталамо-надпочечниковой системы у больных ИБС / Е.И. Соколов, Е.В. Белова, В.М. Фомина и др. // Кардиология.— 1991.— Т. 31, № 11.— С. 12–14.
12. Шишкина Г.Т., Маркель А.Л., Науменко Е.В. Адренорецепторы головного мозга у крыс с наследственно обусловленной эмоциональным стрессом артериальной гипертензией // Генетика.— 1991.— Т. 27, № 2.— С. 279–284.
13. Selye H. The physiology and pathology of exposure to stress.— Monreal, 1950-212 p. Цит. по [14].
14. Барабой В.А. Механизмы стресса и перекисное окисление липидов // Успехи совр. биол.— 1991.— Т. 111, вып. 6.— С. 923–931.
15. Савченкова Л.В. Экспериментальне обґрунтування шляхів лікарської профілактики гіпоксії замкненого простору в нагрівуючому мікрокліматі: Автореф. дис. ... д-ра. мед. наук.— К., 1999 — 36 с.
16. Могилевич С.Е., Радченко И.В., Кибирев В.К. Химия биорегуляторных процессов / Под ред. В.П. Кухаря, А.И. Луйка — К.: Наукова думка, 1991.— 368 с.
17. Чекман И.С. Биохимическая фармакодинамика.— К.: Здоров'я, 1991.— 199 с.
18. Белоусова И.П. Патогенетичне обґрунтування фармакокорекції гіпоксичного синдрому похідними ксантину: Автореф. дис. ... канд. мед. наук — Одеса, 2000.— 13 с.
19. Дарбинян Т.М., Черников В.С., Апасов К.Т. Функции сердца при экзогенном введении аденозинтрифосфорной кислоты: Обзор // Анестезиол. и реаниматол.— 1992.— № 5–6.— С. 64–69.
20. Отечественные препараты метаболической терапии у больных рассеянным склерозом / А.А. Савин, В.А. Карлов, А.Н. Селезнев и др. // Журн. невропатол. и психиатр.— 1995.— № 2.— С. 37–40.
21. Шнейдер А.Б., Дорошкевич Н.А., Анцилевич С.Н. Фармакологическая защита миокарда от стрессорного повреждения при экспериментальном инфаркте // Здоровоохр. Белоруссии.— 1992.— № 1.— С. 21–24.
22. Сидоренко Б.А., Преображенский Д.В. 30 лет клинического применения бета-адреноблокаторов: достижения и перспективы // Терап. арх.— 1995.— № 12.— С. 3–8.
23. Савченкова Л.В. Гіпоксичний синдром: молекулярні механізми патогенезу та фармакотерапія // Ліки.— 1998.— № 8.— С. 66–68.
24. Ramkumar V., Hallam D.M., Nie Z. Adenosine, oxidative stress and cytoprotection // Jpn. j. Pharmacol.— 2001.— Vol. 86 (3).— P. 265–274.
25. Противогипоксические и радиопротекторные свойства селективных агонистов аденозиновых рецепторов / И.А. Ольховский, В.И. Кулинский, А.Д. Климова и др. // Эксп. и клин. фармакол.— 1992.— Т. 55, № 3.— С. 72–74.
26. Роль ингибиторов фосфодиэстеразы цАМФ в фармакотерапии гипоксического синдрома / В.Д. Лукьянчук, Л.В. Савченкова, В.В. Рыдлевский, И.П. Белоусова // Там же.— 1998.— Т. 61, № 6.— С. 36–38.
27. Савченкова Л.В., Белоусова И.П. Взаємозв'язок фармакодинаміки пентоксифіліну з вмістом ейкозаноїдів у тварин з гіпоксичним синдромом // Ліки.— 1998.— № 4.— С. 69–71.

28. *Коробков О.А.* Патогенетичне обґрунтування фармакокорекції синдрому тривалого роздавлення пентоксифіліном: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— Одеса, 2002.— 19 с.
29. *Воронина Т.А.* Современные проблемы фармакологии ноотропов: состояние и перспективы // Фарм. и токсикол.— 1991.— № 2.— С. 6–11.
30. *Ковтун А.І., Мещишен І.Ф.* Вплив даларгіну та гіпербарооксії на стан глутатіонової системи печінки щурів за умов експериментального перитоніту // Мед. хімія.— 2001.— Т. 3, № 3.— С. 52–54.
31. *Метелица В.И.* Антиангинальные средства // Кардиология.— 1994.— № 1.— С. 64–79.
32. Антистрессовый эффект диметилсульфоксида у крыс / И.П. Левшина, Н.В. Туляева, А.Б. Обидин, Е.В. Курочкина // Журн. высш. нервной деят.— 1987.— Т. 37, вып. 2.— С. 350–355.
33. *Лукьянова Л.Д.* Антигипоксические средства метаболического типа и их защитные эффекты с учетом фенотипических особенностей организма // Человек и лекарство: Тез. докл. IX Рос. нац. конгресса.— М., 2002.— С. 652.

Поступила 29.01.2004

MOLECULAR BASIS OF OXIDATIVE STRESS AND POSSIBILITY
OF ITS PHARMACOLOGICAL REGULATION

L.T. Kirichek, E.O. Zubova

S u m m a r y

Updated data about the state of intracellular signal systems of the organism at oxidative stress are presented. The drugs regulating prooxidant-antioxidant balance and the associated transmembranous mechanisms of cellular metabolism normalization are enumerated.