



УДК 612.015.3:546.215

АБАТУРОВ А.Е.<sup>1</sup>, ВОЛОСОВЕЦ А.П.<sup>2</sup>, ЮЛИШ Е.И., ЧЕРНЫШОВА О.Е.<sup>3</sup><sup>1</sup>ГУ «Днепропетровская медицинская академия Министерства здравоохранения Украины»<sup>2</sup>Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца, г. Киев<sup>3</sup>Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького

## АКТИВИРОВАННЫЕ КИСЛОРОДСОДЕРЖАЩИЕ МЕТАБОЛИТЫ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ. ГЕНЕРАТОРЫ И ГЕНЕРАЦИЯ (Часть 2)

**Резюме.** В обзоре даны общие представления о механизмах генерации активированных кислородсодержащих метаболитов.

**Ключевые слова:** активированные кислородсодержащие метаболиты, легкие.

### Активация NOX

#### Активация НАДФН-оксидазы

Механизмы рецептор-ассоциированной активации НАДФН-оксидаз (NOX2) наиболее изучены у фагоцитирующих клеток, у которых во время фагоцитоза наблюдается усиленная продукция активированных кислородных метаболитов (АКМ) [3–5, 7, 8]. Основными стимулирующими факторами механизмов активации НАДФН-оксидазы являются цитокины — TGF- $\beta_1$ , TNF- $\alpha$  и IL-1 $\beta$ , пептидные факторы роста (PDGF, EGF, VEGF, bFGF и инсулин), патоген-ассоциированные молекулярные структуры (PAMP) инфекционных агентов, активирующие Toll-подобные рецепторы (TLR), агонисты G-протеин-связанных рецепторов (GPCR — G-protein-coupled receptors) — ангиотензин II, тромбин, эндотелин-1, серотонин, лизофосфатидиновая кислота, 1-фосфат сфингозина, гистамин, брадикинин. PAMP, в частности флагеллин *Pseudomonas aeruginosa*, могут взаимодействовать и с рецептором P<sub>2U</sub>, что ведет к высвобождению АТФ, которая индуцирует активность НАДФН-оксидазы [14, 23]. НАДФН-оксидаза в нефагоцитирующих клетках активируется лигандами GPCR, некоторыми интерлейкинами и клеточными факторами роста [18].

Инициализация процесса сборки НАДФН-оксидазы в фагоцитирующих клетках связана с двумя внутриклеточными сигнальными факторами — с активностью фосфоинозитол-3-киназы (PI3K) и с повышением внутриклеточной концентрации ио-

нов Ca<sup>2+</sup>. Активация PI3K обуславливает фосфорилирование протеина Rac, что способствует его перемещению к внутренней поверхности цитоплазматической мембраны клетки [7, 17]. Повышение внутриклеточной концентрации ионов Ca<sup>2+</sup> индуцирует кальцийзависимую протеинкиназу C<sub>6</sub> (PKC<sub>6</sub>), которая обуславливает фосфорилирование цитоплазматической фосфолипазы A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>). Цитоплазматическая PLA<sub>2</sub> из фосфатидилхолина высвобождает свободную арахидоновую кислоту, дальнейшая метаболизация которой представлена липооксигеназным и циклооксигеназным вариантами. Под влиянием 5-липоксигеназы из арахидоновой кислоты образуется гидропероксиэйкозатетраеновая кислота (HPETE), которая преобразуется в лейкотриены, эпоксилины, липоксины и гидроксиэйкозатетраеновую кислоту (HETE). При участии циклооксигеназ (COX<sub>1</sub>, COX<sub>2</sub>) арахидоновая кислота метаболизируется до эндопероксида PGG<sub>2</sub>, из которого в дальнейшем образуются гидроксигептадекатриеновая кислота (ННТ), простагландины (ПГЕ<sub>2</sub>, ПГФ<sub>2 $\alpha$</sub> , ПГГ<sub>2</sub>, ПГД<sub>2</sub>), тромбосан A<sub>2</sub>. Цитоплазма-

#### Адрес для переписки с авторами:

Абатуров Александр Евгеньевич  
E-mail: alexabaturov@yandex.ru

© Абатуров А.Е., Волосовец А.П., Юлиш Е.И.,  
Чернышова О.Е., 2015

© «Здоровье ребенка», 2015

© Заславский А.Ю., 2015

тическая  $PLA_2$ , свободная арахидоновая кислота и ее дериваты инициализируют ключевой процесс каскада активации НАДФН-оксидазы — фосфорилирование цитоплазматических  $p47^{phox}$  и  $p67^{phox}$  [26]. В процесс фосфорилирования субъединиц  $p47^{phox}$  и  $p67^{phox}$  НАДФН-оксидазы также вовлечены несколько других киназ —  $p38$ -активированная протеинкиназа,  $p21$ -активированная киназа (РАК), казеиновая киназа-2, протеинкиназа-В. Однако среди этого множества киназ доминирующую роль в процессе активации субъединиц НАДФН-оксидазы играет РКС. Вызванные фосфорилированием конформационные изменения молекулы  $p47^{phox}$  обуславливают перемещение цитоплазматически расположенного комплекса  $p47^{phox}/p67^{phox}$  к внутренней поверхности мембраны клетки [12, 15] с одновременной транслокацией  $p40^{phox}$  и Rac [7].

Активация НАДФН-оксидазы в фагоцитирующих клетках происходит при взаимодействии комплекса  $p47^{phox}/p67^{phox}/p40^{phox}$  и Rac с мембрано-ассоциированным цитохромом  $Cytb_{558}$ . Предполагают, что фосфорилирование аминокислотных остатков  $Ser^{303}$ ,  $Ser^{304}$  и  $Ser^{328}$  протеина  $p47^{phox}$  обуславливает взаимодействие комплекса  $p47^{phox}/p67^{phox}/p40^{phox}$  с богатыми пролиновыми аминокислотными остатками областями эндоплазматического хвоста субъединицы  $p22^{phox}$  мембранного  $Cytb_{558}$ , что обуславливает формирование активного ферментного комплекса (рис. 1) [19].

Регуляция ферментативной активности НАДФН-оксидазы достигается двумя механизмами: пространственным разъединением субъединиц фермента и модуляциями протеин-протеиновых и протеин-липидных взаимодействий [7, 15].

#### Активация других протеинов семейства NOX

Ферменты NOX нефагоцитирующих клеток активируются лигандами GPCR, некоторыми интерлейкинами и клеточными факторами роста [18]. Процесс активации протеинов семейства NOX нефагоцитирующих клеток отличается от активации НАДФН-оксидазы некоторыми особенностями (рис. 2).

По всей вероятности, генерируемый разными NOX  $O_2^-$  выполняет различные функции. АКМ, генерируемые протеинами семейства NOX, оказывают действие как внутри клетки, так и во внеклеточном пространстве. Протеины NOX2 и DUOX1/2 генерируют АКМ во внеклеточное пространство, где они оказывают преимущественно бактерицидное действие. Другие представители семейства NOX генерируют АКМ преимущественно внутрь клетки, таким образом регулируя различные функции клетки (рис. 3) [9]. Так, внутриклеточно генерируемые АКМ ингибируют активность фосфатаз, активируют деятельность киназ ( $p38$  MAPK), регулируют функцию ионных каналов, кальций-зависимое возбуждение, экспрессию генов некоторых протеинов ( $TNF-\alpha$ ,  $TGF-\beta_1$ , ангиотензина II, моноцитарного

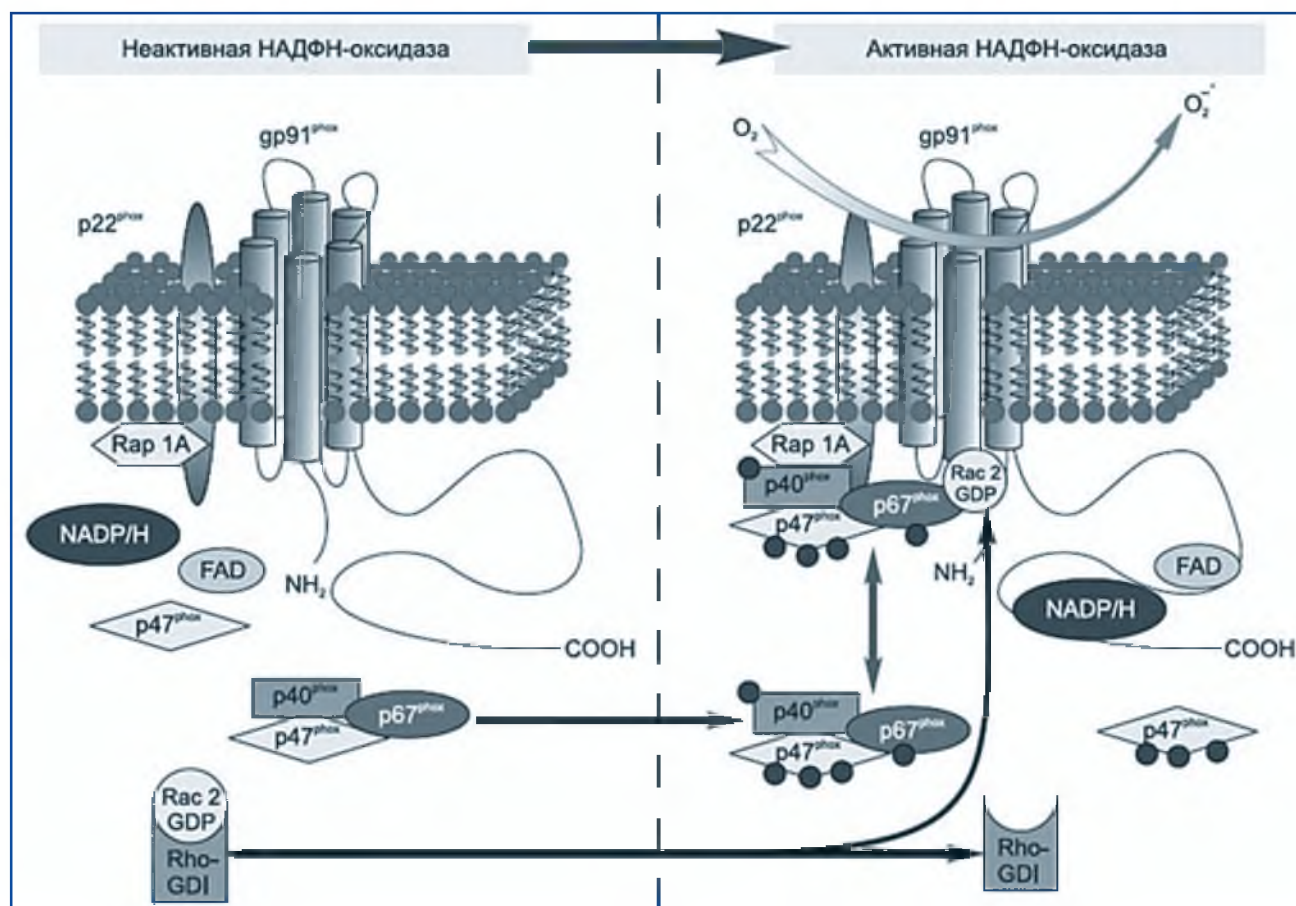


Рисунок 1. Активация НАДФН-оксидазы [13]



хемоаттрактантного протеина-1, ингибитора активатора плазминогена-1) [6].

Функциональная активность протеинов NOX предопределяет развитие разных патологических процессов (рис. 4).

## Генерация АКМ

Активная, полностью собранная НАДФН-оксидаза осуществляет перенос одного электрона на молекулярный кислород. Электроны передаются от первичного электронного донора НАДФН (со средним потенциалом 320 мВ, в частности для NOX2) вдоль электрохимического градиента — ФАД → 2 гема →  $O_2$  (средний потенциал 160 мВ). Электрохимический градиент от НАДФН к  $O_2$ , составляющий 160 мВ, постоянно обеспечивает движение электронного потока с внутренней стороны на внешнюю сторону мембраны [11]. НАДФН-оксидаза генерирует короткоживущий (с периодом полураспада в несколько  $10^{-6}$  секунд)  $O_2^-$ , который без участия ферментов или под влиянием супероксиддисмутаз (SOD) дисмутирует до перекиси водорода ( $H_2O_2$ ) с последующей организацией как гидроксильного радикала ( $OH\cdot$ ), так и, в результате действия каталазы, кислорода ( $O_2$ ) и воды ( $H_2O$ ) (рис. 5) [10, 25].

Основной активной формой кислорода является  $O_2^-$ , который образуется при переносе одного электрона к молекуле кислорода. Супероксидный

анион-радикал может действовать как окислитель и как восстановитель. Супероксидный анион-радикал характеризуется низкой реактивностью по отношению к биоорганическим субстратам. Ключевыми субстратами  $O_2^-$  являются протеины, содержащие железо-серные кластеры. Он активно взаимодействует с цитохромом С, супероксиддисмутазами, аскорбиновой кислотой. И не реагирует с полиненасыщенными жирными кислотами. Однако  $O_2^-$  участвует в реакциях, в результате которых образуются значительно более активные радикальные дериваты кислорода: гидропероксидный и гидроксильный радикал [20].

Двухэлектронный перенос обуславливает образование умеренной по окислительной активности  $H_2O_2$ , трехэлектронный перенос — образование сильного окислителя гидроксильного радикала, который участвует в процессе окисления различных структур клетки [10, 25]. Критически важными являются количественные аспекты окислительно-восстановительных систем. Так, скорость потребления  $O_2$  в организме человека составляет около 0,4 л/мин, но может быть увеличена практически в 10 раз — до максимального значения 4 л/мин. От одного до четырех процентов от объема  $O_2$  в митохондриях превращается в  $H_2O_2$ , то есть скорость образования  $H_2O_2$  составляет от 5000 до 20 000  $\mu\text{моль/кг}^{-1}/\text{мин}^{-1}$ . Фактическая скорость генерации  $H_2O_2$  значительно

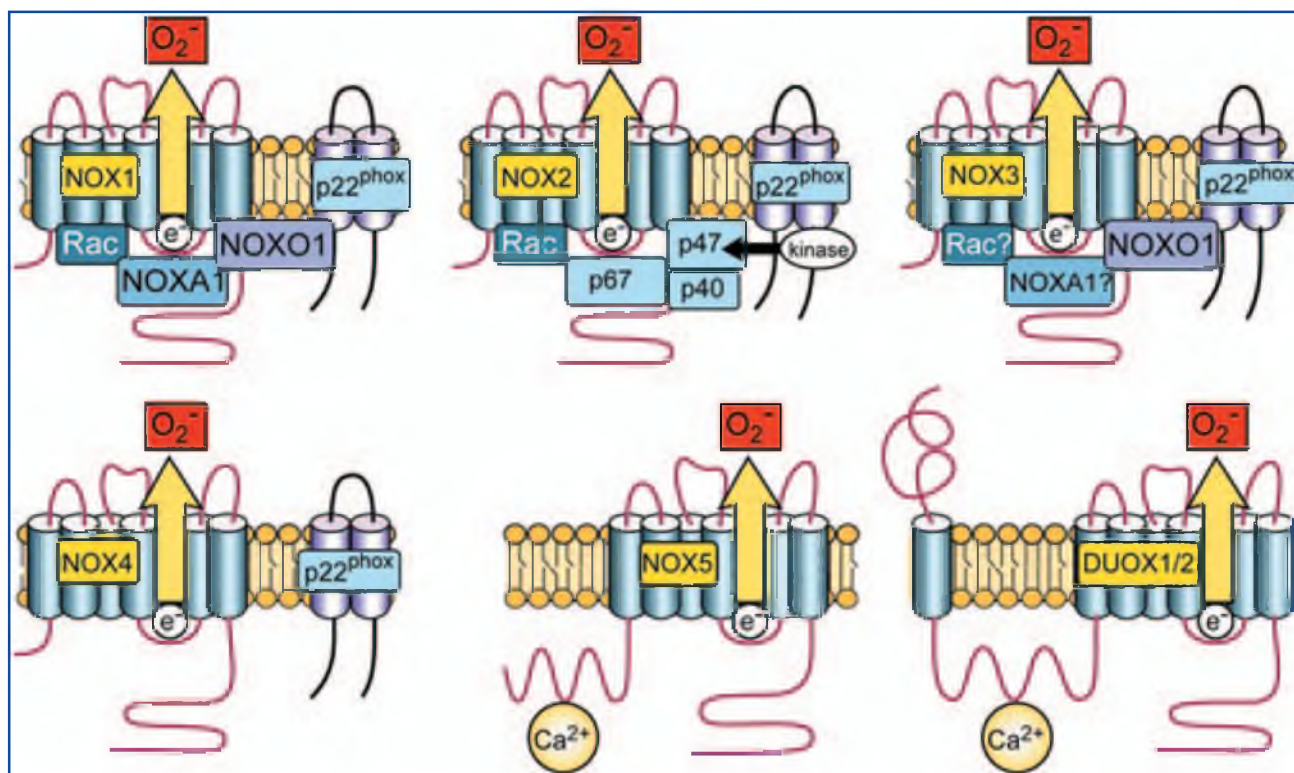


Рисунок 2. Особенности активации представителей семейства NOX [6]

Примечания: для активации NOX1 необходимо участие p22<sup>phox</sup>, NOXO1 и NOXA1 и малых ГТФаз (Rac1 или Rac2). В процессе возбуждения NOX2 участвуют p22<sup>phox</sup>, p47<sup>phox</sup>, p67<sup>phox</sup> и Rac. Протеин p40<sup>phox</sup> также может участвовать в активации NOX2. Активация NOX3 сопровождается привлечением p22<sup>phox</sup> и NOXO1, а для возбуждения NOX4 необходим только p22<sup>phox</sup>. Для активации ферментов NOX5, DUOX1 и DUOX2 достаточно ионов  $Ca^{2+}$ .

больше, так как в ее образовании участвуют и другие генераторы — оксидазы. Было показано, что до 10 %  $O_2$  может быть преобразовано в  $H_2O_2$  [16]. Перекись водорода при взаимодействии с ионами железа или меди разлагается с образованием крайне реакционно-способного гидроксильного радикала по реакции Фентона:  $H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow HO\cdot + OH^- + Fe^{3+}$ . Этим объясняется опосредованное цитотоксическое действие  $H_2O_2$ . Долгое время считалось, что вторым путем образования гидроксильного радикала может быть реакция Хабера — Вайса:  $H_2O_2 + O_2^{\cdot-} \leftrightarrow HO\cdot + O_2 + OH^-$ . Однако в физиологических условиях реакция Хабера — Вайса представляет собой сумму реакций Фентона и восстановления ионов  $Fe^{3+}$

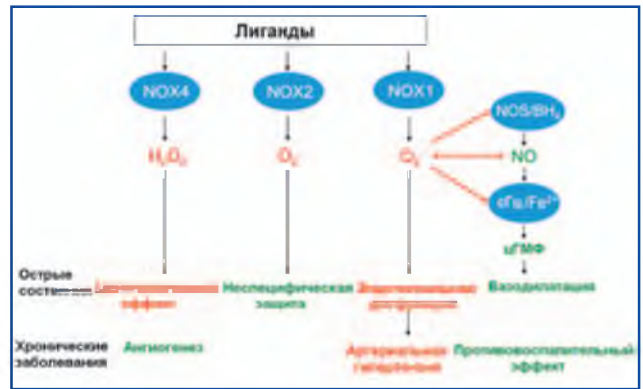


Рисунок 4. Патогенетическая роль NOX при острых и хронических заболеваниях [2]

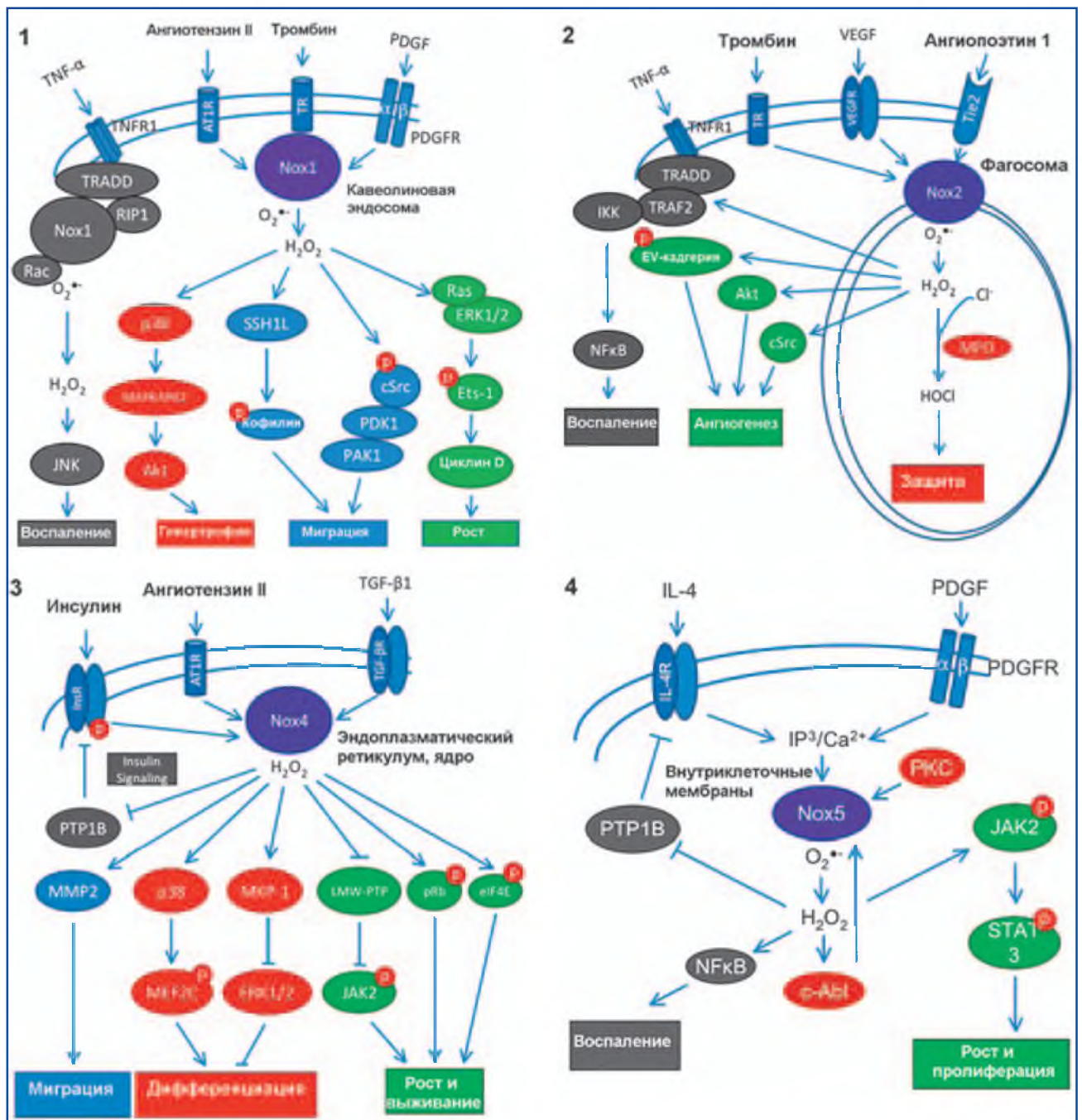
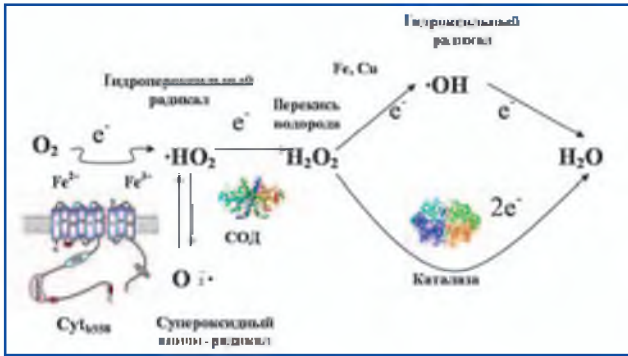


Рисунок 3. Сигнальные пути и эффекты протеинов NOX [9]





**Рисунок 5. Генерация и метаболический путь АКМ (модификация схемы I.C. Mori и J.I. Schroeder [21], модель Cyt<sub>b558</sub> У. Groepping и K. Rittinger [12])**

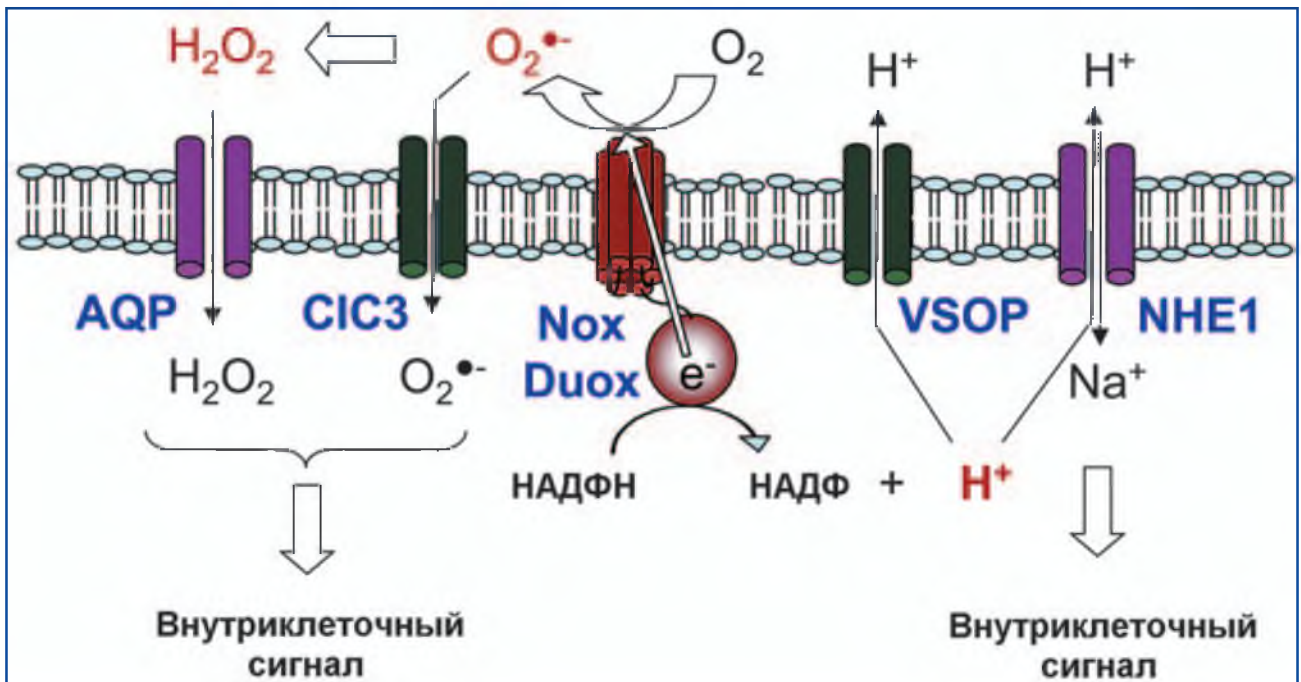
супероксид-анион-радикалом. Генерация гидроксильного радикала возможна и при восстановлении  $H_2O_2$  переносчиком электрон-транспортной цепи митохондрий ферредоксином. Гидроксильный радикал  $OH\cdot$  является самым мощным окислителем из всех форм АКМ. Он может окислять практически все низкомолекулярные органические молекулы, белки и нуклеиновые кислоты. Гидроксильный радикал способен отрывать атом водорода от молекул ненасыщенных жирных кислот и инициировать перекисное окисление липидов. Однако эти реакции строго локализованы, так как гидроксильный радикал — крайне нестабильная молекулярная форма (время жизни  $10^{-9}$  секунд), и потому он реагирует только по месту своего образования [1, 20, 22].

Активация кислорода возможна также путем передачи ему энергии без переноса электрона, что приводит к образованию синглетного кислорода ( $^1O_2$ ) — крайне реакционноспособной молекулы. Электронная конфигурация синглетного кислорода подчеркивает его нерадикальную природу [1, 22].

Активация NOX сопровождается проявлением некоторых вторичных эффектов, которые приводят к перераспределению АКМ: экстраклеточно генерируемый супероксид-анион-радикал и образованная перекись водорода перемещаются во внутренний континуум клетки. Так, возбуждение NOX протеинов приводит к трансмембранному переносу электронов, который сопровождается деполяризацией мембраны клетки и снижением внутриклеточного уровня pH. Данные изменения индуцируют возбуждение некоторых трансмембранных каналов, в частности потенциалзависимых протонных каналов (VSOP) и  $Na^+/H^+$ -обменников (HNE). Деполяризация мембраны клетки способствует открытию VSOP и перемещению ионов  $H^+$  через клеточную мембрану. Обменники HNE регулируют уровень внутриклеточного pH, предупреждая закисление цитоплазмы, и контролируют трансэпителиальный транспорт ионов  $Na^+$ ,  $H^+$ ,  $Cl^-$ . Активация NOX протеинов сопровождается возбуждением аквапоринов (AQP) и хлоридного канала  $ClC3$ , которые осуществляют трансмембранный транспорт  $H_2O_2$  и  $O_2^-$  соответственно из внеклеточного пространства во внутриклеточный континуум (рис. 6) [24].

### Заключение

Генерация активных кислородсодержащих метаболитов в легких преимущественно осуществляется специфическими ферментами, представляющими семейство NOX. Ферменты семейства NOX участвуют как в физиологических реакциях, так и в развитии различных патологических процессов в легких, к тому же ткань легкого особо чувствительна к токсическому воздействию АКМ. Поэтому разработка лекарственных средств, которые специфично регулировали бы активность различных представителей



**Рисунок 6. Вторичные эффекты активации NOX [24]**

семейства NOX, может открыть новые возможности в предупреждении и лечении острых и хронических заболеваний органов дыхания.

## Список литературы

1. Половинкина Е.О., Силицына Ю.В. Окислительный стресс и особенности воздействия слабых стрессоров физической природы на перекисный гомеостаз растительной клетки: Учебно-методическое пособие. — Нижний Новгород, 2010. — 62 с.
2. Altenhöfer S. The NOX toolbox: validating the role of NADPH oxidases in physiology and disease / S. Altenhöfer, P.W. Kleikers, K.A. Radermacher, P. Scheurer, J.J. Rob Hermans, P. Schiffers, H. Ho, K. Winkler, H.H. Schmidt // *Cell. Mol. Life Sci.* — 2012 Jul. — 69(14). — 2327-43. doi: 10.1007/s00018-012-1010-9.
3. Babior B.M. The neutrophil NADPH oxidase / B.M. Babior, J.D. Lambeth, W. Nauseef // *Arch. Biochem. Biophys.* — 2002 Jan 15. — 397(2). — 342-4. doi: 10.1006/abbi.2001.2642.
4. Babior B.M. Phagocytes and oxidative stress // *Am. J. Med.* — 2000 Jul. — 109(1). — 33-44. doi: http://dx.doi.org/10.1016/S0002-9343(00)00481-2.
5. Babior B.M. NADPH oxidase // *Curr. Opin. Immunol.* — 2004 Feb. — 16(1). — 42-7. doi: 10.1016/j.coi.2003.12.001.
6. Bedard K. NOX family NADPH oxidases: not just in mammals / K. Bedard, B. Lardy, K.H. Krause // *Biochimie.* — 2007 Sep. — 89(9). — 1107-12. doi: 10.1016/j.biochi.2007.01.012.
7. Bokoch G.M. Current molecular models for NADPH oxidase regulation by Rac GTPase / G.M. Bokoch, B.A. Diebold // *Blood.* — 2002 Oct 15. — 100(8). — 2692-6. doi: http://dx.doi.org/10.1182/blood-2002-04-1149.
8. Bokoch G.M. NADPH oxidases: not just for leukocytes anymore! / G.M. Bokoch, U.G. Knaus // *Trends Biochem. Sci.* — 2003 Sep. — 28(9). — 502-8. doi: http://dx.doi.org/10.1016/S0968-0004(03)00194-4.
9. Brown D.I. Nox proteins in signal transduction / D.I. Brown, K.K. Griendling // *Free Radic. Biol. Med.* — 2009 Nov 1. — 47(9). — 1239-53. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.07.023.
10. Comhair S.A. Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases / S.A. Comhair, S.C. Erzurum // *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* — 2002 Aug. — 283(2). — L246-55. doi: 10.1152/ajplung.00491.2001.
11. DeCoursey T.E. Interactions between NADPH oxidase and voltage-gated proton channels: why electron transport depends on proton transport // *FEBS Lett.* — 2003 Nov 27. — 555(1). — 57-61. PMID. — 14630319.
12. Groemping Y. Activation and assembly of the NADPH oxidase: a structural perspective / Y. Groemping, K. Rittinger // *Biochem. J.* — 2005 Mar 15. — 386(Pt 3). — 401-16. doi: 10.1042/BJ20041835.
13. Guichard C. Les Nox/Duox: une nouvelle famille de NADPH oxydases / C. Guichard, E. Pedruzzi, M. Fay, S. Ben Mkaddem, N. Coant, F. Daniel, E. Ogier-Denis // *Med. Sci (Paris).* — 2006 Nov. — 22(11). — 953-9. doi: http://dx.doi.org/10.1051/medsci/20062211953.

14. Imai H. Biological significance of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx, GPx4) in mammalian cells / H. Imai, Y. Nakagawa // *Free Radic. Biol. Med.* — 2003 Jan 15. — 34(2). — 145-69. doi: 10.1016/S0891-5849(02)01197-8.
15. Jiang J. TGF- $\beta$ 2 reduces nitric oxide synthase mRNA through a ROCK-dependent pathway in airway epithelial cells / J. Jiang, S.C. George // *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* — 2011 Sep. — 301(3). — L361-7. doi: 10.1152/ajplung.00464.2010.
16. Jones D.P. Radical-free biology of oxidative stress // *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* — 2008 Oct. — 295(4). — C849-68. doi: 10.1152/ajpcell.00283.2008.
17. Kobayashi-Miura M. Oxygen sensing and redox signaling: the role of thioredoxin in embryonic development and cardiac diseases / M. Kobayashi-Miura, K. Shioji, Y. Hoshino, H. Masutani, H. Nakamura, J. Yodoi // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2007 May. — 292(5). — H2040-50. doi: 10.1152/ajpheart.01316.2006.
18. Lambeth J.D. Nox/Duox family of nicotinamide adenine dinucleotide (phosphate) oxidases // *Curr. Opin. Hematol.* — 2002 Jan. — 9(1). — 11-7. PMID. — 11753072.
19. Leto T.L. Targeting and regulation of reactive oxygen species generation by Nox family NADPH oxidases / T.L. Leto, S. Morand, D. Hurt, T. Ueyama // *Antioxid. Redox. Signal.* — 2009 Oct. — 11(10). — 2607-19. doi: 10.1089/ARS.2009.2637.
20. Migdal C. Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant / C. Migdal, M. Serres // *Med. Sci (Paris).* — 2011 Apr. — 27(4). — 405-12. doi: 10.1051/medsci/2011274017.
21. Mori I.C. Reactive Oxygen Species Activation of Plant Ca<sup>2+</sup> Channels. A Signaling Mechanism in Polar Growth, Hormone Transduction, Stress Signaling, and Hypothetically Mechanotransduction / I.C. Mori, J.I. Schroeder // *Plant. Physiol.* — 2004 Jun. — 135(2). — 702-8. doi: 10.1104/pp.104.042069.
22. Nishinaka Y. Singlet oxygen is essential for neutrophil extracellular trap formation / Y. Nishinaka, T. Arai, S. Adachi, A. Takatori-Kondo, K. Yamashita // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2011 Sep 16. — 413(1). — 75-9. doi: 10.1016/j.bbrc.2011.08.052.
23. Rhee S.G. Cellular Regulation by Hydrogen Peroxide / S.G. Rhee, T.-S. Chang, Y.S. Bae, S.-R. Lee, S.W. Kang // *J. Am. Soc. Nephrol.* — 2003 Aug. — 14(8 Suppl 3). — S211-5. doi: 10.1097/01.ASN.0000077404.45564.7E.
24. Van der Vliet A. NADPH oxidases in lung biology and pathology: host defense enzymes, and more // *Free Radic. Biol. Med.* — 2008 Mar 15. — 44(6). — 938-55. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.11.016.
25. Vignais P.V. The superoxide-generating NADPH oxidase: structural aspects and activation mechanism // *Cell. Mol. Life Sci.* — 2002 Sep. — 59(9). — 1428-59. PMID. — 12440767.
26. Zmijewski J.W. Cell signalling by oxidized lipids and the role of reactive oxygen species in the endothelium / J.W. Zmijewski, A. Landar, N. Watanabe, D.A. Dickinson, N. Noguchi, V.M. Darley-Usmar // *Biochem. Soc. Trans.* — 2005 Dec. — 33(Pt 6). — 1385-9. doi: 10.1042/BST20051385.

Получено 22.12.14 ■

Абатуров О.Є.<sup>1</sup>, Волосовець О.П.<sup>2</sup>, Юліш Є.І., Чернишова О.Є.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ДЗ «Дніпропетровська медична академія Міністерства охорони здоров'я України»

<sup>2</sup>Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, м. Київ

<sup>3</sup>Донецький національний медичний університет ім. М. Горького

### АКТИВОВАНІ КИСНЕВМІСНІ МЕТАБОЛІТИ ОРГАНІЗМУ ЛЮДИНИ ПРИ ЗАХВОРЮВАННЯХ ОРГАНІВ ДИХАННЯ. ГЕНЕРАТОРИ І ГЕНЕРАЦІЯ (ЧАСТИНА 2)

**Резюме.** В огляді надані загальні уявлення про механізми генерації активованих кисневмісних метаболітів.

**Ключові слова:** активовані кисневмісні метаболіти, легені.

Abaturov A.Ye.<sup>1</sup>, Volosovets A.P.<sup>2</sup>, Yulish Ye.I., Chernyshova O.Ye.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>State Institution «Dnipropetrovsk Medical Academy of Ministry of Healthcare of Ukraine», Dnipropetrovsk

<sup>2</sup>National Medical University named after A.A. Bohomolets, Kyiv

<sup>3</sup>Donetsk National Medical University named after M. Horkiy, Donetsk, Ukraine

### ACTIVATED OXYGEN-CONTAINING METABOLITES OF THE HUMAN BODY IN RESPIRATORY DISEASES. GENERATORS AND GENERATION (PART 2)

**Summary.** The review presents general ideas about the mechanisms of generation of activated oxygen-containing metabolites.

**Key words:** activated oxygen-containing metabolites, lungs.